

Analyse der Oberflächenmarkerexpression zur Verlaufskontrolle bei der akuten lymphatischen Leukämie des Erwachsenen

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Jana Günther
geboren am 26.03.1980 in Nordhausen

Gutachter

1. Prof. Dr. med. Katharina Pachmann
Klinik für Innere Medizin II
Universitätsklinikum Jena
2. Prof. Dr. med. James Beck
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Universitätsklinikum Jena
3. Privatdozent Dr. med. Dr. phil. Fuat Oduncu
Hämatologie und Onkologie der Medizinischen Klinik
Innenstadt Klinikum der Universität München

Tag der öffentlichen Verteidigung: 5.5.2009

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Zusammenfassung	5
Einleitung	7
1. Epidemiologie.....	7
2. Ätiologie und Pathogenese.....	7
3. Diagnose und Klassifikation.....	8
3.1. Spezielle Diagnostik.....	10
3.1.1. Morphologie.....	10
3.1.2. Immunphänotypisierung.....	10
3.1.3. Zytogenetik.....	13
3.1.4. Molekulargenetik.....	15
a) Southern-Blot-Analyse.....	15
b) PCR-Analyse.....	15
c) FISH-Technik bei ALL.....	17
4. Anamnese und klinische Symptomatik.....	18
5. Differenzialdiagnose.....	19
6. Therapie nach Risikogruppen.....	21
6.1. Allgemeines, Entwicklung.....	21
6.2. Therapieprotokolle.....	23
Ziele der Arbeit	27
Methodik	28
1. Patienten.....	28
2. Untersuchungsmaterial.....	28
3. Methode: Durchflusszytometrie.....	28
Ergebnisse (Grafiken und Therapieverläufe).....	30
Einzelfalldiskussion.....	77
1. Patienten mit bcr-abl-positiver c-ALL.....	77
2. Patienten mit bcr-abl-negativer c-ALL.....	82
3. Patienten mit pro-B-ALL.....	89
4. Patienten mit prä-B-ALL.....	93
5. Patienten mit biphänotypischer ALL.....	96
6. Patient mit ED AML.....	99

	Seite
7. Patient mit T-ALL.....	100
8. Patient mit B-ALL.....	101
9. Patient mit unklarer Diagnose.....	102
Gesamtdiskussion	104
1. Vergleich der Patienten mit bcr-abl-positiver c-ALL.....	104
2. Vergleich der Patienten mit bcr-abl-negativer c-ALL.....	104
3. Vergleich der Patienten mit pro-B-ALL.....	106
4. Vergleich der Patienten mit prä-B-ALL.....	107
5. Vergleich der Patienten mit biphänotypischer ALL.....	108
6. Vergleich der Patienten mit ED AML.....	109
7. Vergleich der Patienten mit T-ALL.....	110
8. Vergleich der Patienten mit B-ALL.....	110
9. Vergleich der Patienten mit unklarer Diagnose.....	111
10. Vergleich der Patienten mit PBSZT.....	111
10.1. Vergleich der Patienten mit allogener PBSZT.....	111
10.2. Vergleich der Patienten mit autologer PBSZT.....	113
10.3. Vergleich allogene – autologe PBSZT.....	114
11. Vergleich der Patienten mit Rezidiv.....	115
12. Zusammenfassender Vergleich mit der Literatur.....	117
Schlussfolgerung.....	119
Literatur- und Quellenverzeichnis	122
Anhang	125
- Ehrenwörtliche Erklärung	
- Danksagung	
- Lebenslauf	

Abkürzungsverzeichnis

alloPBSZT	allogene PBSZT
Ara-C	Cytosinarabinosid
autoPBSZT	autologe PBSZT
ChT	Chemotherapie
DD	Differenzialdiagnose
ED	Erstdiagnose
ET	Erhaltungstherapie
geb.	geboren
GvHD	Graft-versus-Host-Disease
GvL	Graft-versus-Leukemia
H	Histologie
IDA	Idarubicin
Ind.	Induktion
iET	intensivierte Erhaltungstherapie
i.v.	intravenös
K.	Konsolidierung
KM	Knochenmark
m	männlich
6-MP	6-Mercaptopurin
MTX	Metothrexat
PBSZT	periphere Blutstammzelltransplantation
p.o.	per os
Reind.	Reinduktion
TBI	total body irradiation, Ganzkörperbestrahlung
w	weiblich
Z	Zytologie

Zusammenfassung

Die akute lymphatische Leukämie ist eine vergleichsweise seltene Erkrankung. Beim Erwachsenen liegt das durchschnittliche Erkrankungsalter zwischen 30 und 40 Jahren. Die B-Linien-Leukämien sind mit 76 % häufiger als die T-Linien-Leukämien mit 24 %; dabei ist die c-(common-) ALL die häufigste Form. Bei 60-80% der Leukämien können als Ursache chromosomale Abberationen gefunden werden. Die Einteilung erfolgt von der EGIL anhand immunologischer Kriterien. Diagnostisch werden die Morphologie, die Immunphänotypisierung anhand von Oberflächenmarkern sowie genetische und molekulargenetische Untersuchungen angewandt. Symptome ergeben sich vorwiegend aus der zunehmenden Verdrängung der Zellen der Hämatopoese durch die malignen Zellen, z.B. Anämie, Blutungsneigung sowie Infektanfälligkeit. Weiterhin ist häufig eine Hepatosplenomegalie zu finden. Differenzialdiagnostisch sind Lymphome sowie akute Viruserkrankungen in Betracht zu ziehen. Die Therapie erfolgt anhand von unterschiedlichen Protokollen für einzelne Untergruppen der Erkrankung, die im Rahmen von multizentrischen Therapiestudien angewandt werden.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Möglichkeiten der Immunzytologie hinsichtlich Verlaufskontrollen und Möglichkeiten der Vorhersage eines Rezidivs zu untersuchen und sie mit den herkömmlichen Methoden der Zytologie zu vergleichen.

Die Untersuchung der Zellen erfolgte mittels Durchflusszytometrie. Dabei werden Zellen des Patienten, gewonnen durch Knochenmarkpunktionen, mit fluorochrommarkierten Antikörpern inkubiert, welche sich dann je nach Oberflächenmarkierung der malignen Zellen an diese anheften und mittels Laserstrahl detektiert werden können. Aus den Untersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten während und nach der Therapie ergeben sich die Verlaufskurven der einzelnen Zellen über einen bestimmten Zeitraum für die Patienten.

Es werden Patienten aus den Untergruppen der ALL untereinander hinsichtlich des Verhaltens der malignen Zellen, der Zellen mit myeloischen Markern, CD 4/ CD 8-Verhältnis und Ergebnissen der zytologischen Untersuchung verglichen, unter besonderer Beachtung von Rezidiven und der Fragestellung nach Möglichkeiten der frühzeitigen Rezidiverkennung. Weiterhin erfolgt ein Vergleich der Patienten mit autologer oder allogener Stammzelltransplantation hinsichtlich o. g. Kriterien.

Als Schlussfolgerung der Arbeit ergibt sich die Tatsache, dass mit Hilfe der Immunzytologie bei fast allen Patienten zu jedem Zeitpunkt eine Persistenz von malignen Zellen nachweisbar war. Das scheint jedoch, genauso wie die Höhe der nachgewiesenen pathologischen Zellen, keinen Einfluss auf ein Rezidiv zu haben, d. h., aus dem Vorhandensein von Resttumorzellen lässt sich

kein drohendes Rezidiv vorhersagen. Ein wiederholter Anstieg vor dem zytologisch diagnostizierten Rezidiv deutet dieses jedoch oft an. Neben den pathologischen lassen sich auch die anderen Zellen des Knochenmarkes verfolgen und in ihrem Verlauf beurteilen, z.B. myeloische Vorläuferzellen, die häufig erhöht sind, möglicherweise als Zeichen der Regeneration, aber eventuell auch als Kofaktor und Prädiktor für ein Rezidiv. Weder die eine noch die andere These konnte bewiesen oder widerlegt werden. Auch die oft erhöhten CD 8-positiven Zellen könnten eine Rolle bei der Rezidiventstehung spielen bzw. ein solches ankündigen, da hier nur bei den Rezidivpatienten sehr stark erhöhte Werte gefunden werden können. Die eingetretenen Rezidive sind zytologisch ebenso erkannt worden wie durch die Immunzytologie, so dass sich hier kein eindeutiger Vorteil für die Immunzytologie ergibt. Der Vorteil der Immunzytologie liegt in der Möglichkeit der genaueren Beobachtung des Verhaltens und der Veränderungen der einzelnen Zellpopulationen, und zwar sowohl für die malignen als auch für die gesunden Zellen im Knochenmark.

Einleitung

Akute lymphatische Leukämie (ALL) bei Erwachsenen

1. Epidemiologie

Die ALL ist mit einer Inzidenz von ca. 1/100000 Einwohner eine seltene neoplastische Erkrankung. Beim Erwachsenen liegt das mittlere Erkrankungsalter zwischen 30 und 40 Jahren, sie kommt aber in jedem Alter vor (1).

2. Ätiologie und Pathogenese

Das lymphatische System besteht aus zwei Hauptkompartimenten: dem B-Zell-System für die humorale Immunität und dem T-Zell-System für die zelluläre Immunität. Die Reifung beider Zellsysteme erfolgt ständig aus pluripotenten Stammzellen, wobei die frühe Entwicklung der B-Zellen im Knochenmark und den Lymphknoten und die der T-Zellen vorwiegend im Thymus stattfindet. Die akuten lymphatischen Leukämien entstehen durch genetische Veränderungen aus einer frühen Entwicklungsstufe einer lymphatischen Zelle, die dieser einen Wachstumsvorteil geben und so entspricht der maligne Klon einer lymphatischen Vorläuferzelle in einem bestimmten Entwicklungsstadium (1). Durch Akkumulation der malignen Zellen infolge eines gestörten Proliferations – und Apoptoseprogrammes sowie durch eine parakrine Suppression der normalen Hämatopoese kommt es zu einer zunehmenden hämatopoetischen Insuffizienz (1). Aufgrund des Homing-Verhaltens findet man gehäuft mediastinal im Thymusbereich solide Tumormanifestationen bei den T-ALL; bei allen ALL findet man eine Mitbeteiligung der lymphatischen Organe in Form von Lymphadenopathie und Hepatosplenomegalie.

B- und T-Zellen bilden während ihrer Reifung einen B-Zell- (Immunglobulin-) bzw. T-Zell-Rezeptor aus, der sich auf der Oberfläche der Zelle befindet. Der für jede Zelle spezifische Rezeptor entsteht durch Rekombination genetischer Abschnitte, die für die Bildung der Immunglobuline und des T-Zellrezeptors kodieren (Rearrangement), u. a. enzymvermittelt durch Rekombinasen. Dadurch entstehen variable Sequenzen, die für den jeweiligen malignen Klon typisch sind. Fehler in diesem Rekombinasensystem werden aber auch für die Pathophysiologie der lymphatischen Systemerkrankungen postuliert (2). Dabei werden normalerweise weit voneinander entfernt im Genom befindliche Gene fälschlicherweise miteinander rekombiniert.

Dies führt zu Überexpression oder zur funktionellen Ausschaltung des Gens oder es kommt zur Entstehung eines Fusionstranskriptes mit veränderten Eigenschaften. Aus diesen Faktoren ergibt sich dann ein Wachstumsvorteil bzw. der maligne Phänotyp. Aber auch andere Mechanismen jenseits der Rekombinasen können zu Translokationen führen, so z.B. die homologe Rekombination zwischen repetitiven DNA-Sequenzen oder das in seiner Funktion weitgehend unbekannte Protein Translin, das an DNA-Sequenzen in der Umgebung chromosomaler Bruchpunkte bindet. Bei 60-85% aller ALL können mittlerweile chromosomale Abberationen gefunden werden, allerdings nur bei ca. 40% der T-ALL. Häufig auftretende Abberationen haben einen prognostischen Stellenwert bekommen. Bei den ALL ohne nachgewiesene Abberationen bleibt die Pathophysiologie derzeit noch unklar, es dürften jedoch ähnliche Mechanismen eine Rolle spielen (Übersichtsarbeiten zum Thema 3-5).

3. Diagnose und Klassifikation

Die akuten lymphatischen Leukämien werden heute kaum mehr morphologisch, sondern vorwiegend immunologisch klassifiziert (von der Europäischen Gruppe zur immunologischen Charakterisierung der Leukämien (EGIL); **siehe Tabelle 1**). Dabei ist neben der Zuordnung der Blastenpopulation zu B- oder T-Zell-Reihe mit Hilfe der Immunphänotypisierung nach EGIL die Einteilung in die in Tabelle 1 aufgeführten Subtypen möglich. Jedoch sind Morphologie und Zytologie auch bei den ALL Ausgangspunkt der Diagnostik. Die 1976 von der French-American-British- (FAB-) Gruppe vorgeschlagene Einteilung in die Subtypen L1 – L3 hat keine klinische Bedeutung mehr mit Ausnahme des Subtyps L3, der meist dem Subtyp BIV (reife B-ALL) der EGIL entspricht (6, 7, 8). Die morphologische Einteilung in L1 – L3-Typ wird nach der WHO-Klassifikation auch nicht mehr empfohlen (9).

Auch die früher erfolgte Einordnung der Blasten nach zellmorphologischen und zytochemischen Eigenschaften mittels der PAS-Färbung gilt nicht mehr als sicheres differenzialdiagnostisches Kriterium aufgrund der nur unzuverlässigen Unterscheidungsmöglichkeit zu myeloischen Leukämien (8). Hierbei wurde eine Unterscheidung in lymphoblastische (PAS-positiv bei gleichzeitigem Fehlen der Myeloperoxidase (POX) und der Esterase) und undifferenzierte (PAS-negativ) Blasten getroffen; jedoch ist die PAS-Färbung auch bei den myeloischen Leukämien u. U. mit unterschiedlicher Stärke positiv.

Tabelle 1. Immunologische Subgruppen bei 946 erwachsenen ALL-Patienten (8, 10, 11)

Bezeichnung	Charakteristische Antigenexpression	Inzidenz
B-Linien-ALL	CD19+ u./o. CD79a+ u./o. CD22+	76%
Pro-B-ALL (BI)	Keine anderen B-lymphatischen Differenzierungsantigene	11%
Common (c)-ALL (BII)	CD10+	51%
Pre-B-ALL (BIII)	cyIgμ+	10%
Mature B-ALL (BIV)	sIgM+, cy o. s-kappa o. s-lambda	4%
T-Linien-ALL	cyCD3 oder sCD3	24%
Pro-T-ALL (TI)	CD7+	6%
Pre-T-ALL (TII)	CD2+ u./o. CD5+ u.o. CD8+	
Cortical T-ALL (TIII)	CD1a+	18%
Mature T-ALL (TIV)	sCD3+, CD1a–	
TCR α/β	anti-TCR α/β+	
TCR γ/δ	anti-TCR γ/δ+	

cy = zytoplasmatisch; s = surface (Oberfläche); CD = Cluster of Designation (Auflistung siehe Kapitel „Allgemeine Diagnostik“); TCR = T-Zell-Rezeptor.

Zusätzlich zu den ALL-Subtypen wird nach der EGIL die sog. „My-pos.“ ALL abgegrenzt, eine Gruppe akuter lymphatischer Leukämien mit Koexpression myeloischer Antigene, die von den biphenotypischen Leukämien unterschieden werden muss (siehe „spezielle Diagnostik“) (12).

Der Subtyp Prä-B-ALL (BIII) wird aufgrund der fehlenden klinischen Bedeutung in Abgrenzung von der c-ALL von dieser zunehmend nicht mehr getrennt, zumal die problematische durchflusszytometrische Analytik hinsichtlich des Nachweises der Expression von zytoplasmatischen Igμ (cyIgμ) hinzukommt (12).

Zytogenetik und Molekulargenetik sind bei der ALL obligate Untersuchungen zur unabhängigen Identifikation prognostischer Untergruppen.

Bei ca. 60-80% der erwachsenen ALL-Patienten liegen strukturelle oder numerische Chromosomenabberationen vor, die in charakteristischer Weise mit spezifischen Subgruppen der ALL assoziiert sind (12).

Mit einer Inzidenz von 20% für alle ALL am häufigsten und von besonderer Bedeutung wegen ihrer schlechten Prognose ist die Philadelphia-Chromosom-positive ALL (t(9;22)). Sie entspricht immunologisch in der Regel der c-ALL oder Prä-B-ALL. Molekulargenetisch kann man dabei das bcr/abl-Fusionstranskript nachweisen (12, 13, 14, 15).

Bei mehr als 50% der Patienten mit Pro-B-ALL und mit einer Gesamtinzidenz von 6% findet sich die klinisch und therapeutisch relevante Translokation t(4;11) bzw. das Fusionstranskript ALL1-AF4 (16).

Alle anderen klonalen Abberationen bei der ALL weisen eine Inzidenz von weniger als 10% auf.

3.1. Spezielle Diagnostik

3.1.1. Morphologie

Außer dem Subtyp L3, der mit dem immunologischen Subtyp der reifen B-ALL (BIV) korreliert und morphologisch einfach von den anderen FAB-Typen zu unterscheiden ist, hat die Subtypisierung der ALL in die Gruppen L1-L3 keine wesentliche Bedeutung mehr. Die Erkennung des Subtyps L3 ist wichtig, da die Prognose durch eine spezielle Therapie erheblich verbessert werden konnte. Ein gleichförmig großer Zelltyp mit regelmäßigen ovalen bis runden Kernen mit dichtem Kernchromatin und ein bis mehreren prominenten Nukleolen ist hierbei morphologisch vorherrschend. Dabei ist das Kernchromatin homogen und feinkörnig, und es findet sich charakteristischerweise ein basophiler, meist breiter Zytoplasmasaum mit deutlichen Vakuolen (7, 8).

Zytochemisch zeigt ein Teil der ALL-Blasten oft eine grobkörnige Ablagerung PAS-positiven Materials im Zytoplasma. Hierbei ist der Anteil der PAS-positiven Blasten allerdings sehr variabel und die Färbung nicht spezifisch für die ALL. Dagegen muss die Myeloperoxidase (POX) negativ sein; die unspezifische Esterase ist negativ oder nur schwach positiv (12).

3.1.2. Immunphänotypisierung

Tabelle 1 und 2 listen die immunologischen Kriterien für die Subtypisierung der ALL auf. Die Abgrenzung von den Peroxidase-negativen Subtypen der AML sowie von biphenotypischen oder „bilineage“-Leukämien (siehe „Differenzialdiagnose“) erfolgt durch zusätzliche Einbeziehung von Antikörpern gegen myeloische Antigene, wie CD13, CD14, CD15, CD33 und CD65.

Alle Subtypen der ALL der T-Zell-Reihe weisen eine Expression des Pan-T-Antigens CD3, überwiegend nur im Zytoplasma (cyCD3) sowie von CD7, meist auch CD5, CD2 und der TdT als linienunspezifischem, unreifem Antigen auf. Dabei ist nur CD3 streng T-linienspezifisch; CD2, CD5 und CD7 sind dagegen auch bei einem Teil der AML „abberant“ zu finden oder können im Verlauf als zusätzliche abberante Antigene hinzutreten (12).

Im intrathymischen Stadium der T-Zell-Differenzierung findet sich im Gegensatz zu reifen T-Zellen eine Koexpression von CD4 und CD8 auf der gleichen Zelle. Im frühen thymischen Reifungsstadium erfolgt eine Expression des Antigens CD1a („Thymusantigen“) gemeinsam mit CD10. Im späten thymischen Reifungsstadium findet sich eine Ausprägung von surface-CD3 (sCD3) (12).

Tabelle 2. Immunologische Subtypen akuter Leukämien bei Kindern und Erwachsenen (8, 17)

Subtypen	B-Vorläufer-Zell-Leukämie			B-ALL	T-Linien-ALL			
	Pro-B	Common	Pre-B		Pro-T	Pre-T	Cortic.T	Mature T
TdT	+	+	+	-	+	+	+	+/-
HLA-DR	+	+	+	+	+/-	-	-	-
CD10	-	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-
CD19	+	+	+	+	-	-	-	-
cyCD22	+	+	+	+	-	-	-	-
cyCD79a	+	+	+	+	-	-	-	-
cy μ	-	-	+	-	-	-	-	-
IgM	-	-	-	+	-	-	-	-
cyCD3	-	-	-	-	+	+/-	+/-	-
CD7	-	-	-	-	+	+	+	+
CD2	-	-	-	-	-	+	+	+
CD5	-	-	-	-	-	+	+	+
CD1a	-	-	-	-	-	+	+	-
CD3	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-

+ positiv bei > 20% der Blasten, +/- positiv bei 10% bzw. – positiv bei < 10% der Blasten
cy = zytoplasmatisches Antigen

Im normalen oder regenerierenden Knochenmark sind ohne spezielle Anreicherungsverfahren weder thymische noch präthymische Antigene nachweisbar. Dieser Sachverhalt stellt eine Grundlage für die Erkennung residualer Leukämiezellen oder eines Rezidivs im weiteren Verlauf dar.

Bei den präthymischen ALL (Pro-T-ALL und Prä-T-ALL) fehlt die thymusspezifische Expression von CD1a, CD4 und CD8. Stattdessen zeigen sie eine Expression der Pan-T-Zell-Antigene zusammen mit dem Stammzellantigen CD34 und/oder HLA-DR oder CD10.

Bei der nur sehr selten diagnostizierten reifen T-ALL findet sich eine Expression von CD7, CD5, CD2 sowie CD3 gemeinsam mit CD4 oder CD8. Charakteristischerweise fehlt die Expression von CD1a.

Seltener als die klassischen T-Zell-Leukämien sind die LGL-Leukämien (Large Granular Lymphocyte), die heute als eigenständig abgegrenzt werden. Dabei werden zwei Formen unterschieden: CD3/TCR-positive T-LGL-Leukämien und CD3/TCR-negative NK-LGL-Leukämien. In der Morphologie zeigen die Blasten runde bis ovale, exzentrische Kerne mit mäßig kondensiertem Chromatin und azurophile Granula im blass basophilen Zytoplasma.

Die T-LGL-Leukämien exprimieren mit 95% am häufigsten das Antigenmuster CD2+, CD3+, CD4-, CD5-, CD7-, CD16+, CD25-, CD8+, CD56-, CD57+/- . Sie zeigen einen indolenten Verlauf mit Lymphozytose, Neutropenie, Anämie und Splenomegalie. Die bei Europäern sehr seltene NK-LGL-Leukämie zeigt charakteristischerweise die Antigene CD2, CD56, CD16;

variabel exprimiert sie CD57 und CD8, einen T-Zell-Rezeptor hat sie nicht. Sie verläuft sehr aggressiv (18,19).

Zu den B-Vorläufer-Leukämien („B-cell-precursor“-ALL) zählen die Pro-B-ALL, die C-ALL und die Prä-B-ALL. Sie zeigen als B-linienspezifisches Merkmal die Expression von zytoplasmatischem CD22 (cyCD22) sowie nicht streng linienspezifisch die Pan-B-Zell-Antigene CD19 und auch CD24, welche auch „abberant“ bei akuten myeloischen Leukämien vorkommen können (12).

Die Pro-B-Zell-Leukämie ist charakterisiert durch das Fehlen von CD10 (20). Wahrscheinlich repräsentiert sie das Muster einer seltenen, im normalen Knochenmark nicht nachweisbaren stammzellnahen Differenzierungsstufe der B-Lymphozytopoese. Für diese Leukämie typisch sind das Chromosom 11 einbeziehende Genumlagerungen, z.B. t(4;11) (21). Mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers 7.1 konnte man ein Oberflächenantigen erkennen, das homolog dem NG2-Proteoglykan der Ratte ist und beim gesunden Menschen weder auf reifen noch auf hämatopoetischen Vorläuferzellen exprimiert wird. Blasten einiger Subtypen der ALL werden durch den Antikörper jedoch erkannt, z.B. die Pro-B-ALL mit t(4;11). Nach den bisher vorliegenden Daten zeigt der Antikörper eine hohe Spezifität von ca. 70-100% (je nach Leukämiesubtyp) in der Detektion des 11q23-Rearrangements. Bei einem Nachweis des NG2-Moleküls mittels des Antikörpers 7.1 kann somit in hohem Maße auf das Vorliegen der t(4;11) geschlossen werden. Auch für den Nachweis minimaler residualer Erkrankung (MRD) ist dieser Antikörper interessant. Oftmals findet sich eine Koexpression myeloischer Antigene (z.B. CD65, CD15) (22).

Die der späteren B-Lymphopoese entsprechende Prä-B-ALL exprimiert charakteristischerweise zytoplasmatische IgM-Schwerketten (cyIgμ) in definitionsgemäß >10% der Blasten ohne assoziierte Ig-kappa- oder Ig-lambda-Leichtketten. Da die klinische Bedeutung der Prä-B-ALL (BIII) in Abgrenzung von der C-ALL fehlt und zytoplasmatisches Igμ (cyIgμ) mittels Durchflusszytometrie schwierig nachzuweisen ist, wird dieser Subtyp zunehmend nicht mehr von der C-ALL unterschieden und die Untersuchung auf Expression von cyIgμ in vielen Labors nicht mehr durchgeführt (12).

Charakteristisch für die c-ALL sind die Expression von CD10 („calla“-Antigen = common acute lymphoblastic leukaemia antigen) und das Fehlen der Expression von M-Schwerketten im Zytoplasma im Gegensatz zur Prä-B-ALL (23). Außerdem finden sich dort CD19, cyCD22, CD24 und cyCD79a. CD34 und/oder CD20 oder TdT können positiv sein bei Negativität für membranständiges Immunglobulin. **Tabelle 3** zeigt die für die c-ALL beschriebenen Chromosomenbefunde und die damit einhergehenden unterschiedlichen Prognosen (24).

Tabelle 3

Befund	Inzidenz	Prognose
Hyperploidien >50 Chromosomen DNA-Index von > 1,16	30%	günstig
t(12;21)	10-30%	günstig?
t(1;19)	8%	Hochrisiko?
t(9;22)	5-35%	Hochrisiko

Eine Expression von CD10 zeigen unter Umständen auch lymphoblastische B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphome (B-NHL) und reife B-ALL (Mature B-ALL). Anders als die Prä-B-ALL zeigen sie jedoch eine Expression sowohl von IgM-Schwerketten als auch Ig-Kappa- oder Ig-Lambda-Leichtketten und eine Negativität von TdT (12). Immunphänotypisch entsprechen die Blasten der frühen B-Zelle, die sowohl im regenerierenden Knochenmark als auch in kleiner Anzahl im peripheren Blut, vor allem bei Kindern, nachweisbar ist. Von der frühen B-Zelle abweichend ist die Negativität für CD24 (8,17). Typische Karyotypen dieser Leukämie sind t(2;8) oder t(8;22). Der Verlauf der Erkrankung ist unter spezifischer Therapie günstig.

ALL mit Koexpression von mehr als einem myeloischen Antigen (CD13, CD14, CD15, CD33 und/oder CD65), sog. My⁺-ALL, finden sich bei ca. 20% der Erwachsenen-ALL und damit ungefähr bei doppelt so vielen wie bei der kindlichen ALL. Allerdings schwankt diese Zahl in der Literatur sehr stark und bei enger Anwendung der Kriterien einer biphenotypischen bzw. „bilineage“-Leukämie reduziert sie sich auf ca. 5% (17). Bei den ALL der B-Zell-Reihe ist eine aberrante Expression myeloischer Antigene häufiger als bei denen der T-Zell-Reihe und bei beiden Zelllinien bei den sehr unreifen Subtypen (Pro-B-ALL, Pro-T-ALL; beide häufiger bei Erwachsenen als bei Kindern). In einigen Studien über Erwachsenen-ALL scheint es im Gegensatz zur kindlichen ALL eine schlechtere Prognose bei aberranter myeloischer Antigenexpression zu geben. Dabei ist unklar, ob es sich hier um einen unabhängigen prognostischen Faktor handelt (25, 26, 27).

3.1.3. Zytogenetik

Bei ca. 60-80% der Erwachsenen-ALL finden sich strukturelle oder numerische Chromosomenaberrationen, die in charakteristischer Weise mit spezifischen Subtypen der ALL assoziiert sind. In **Tabelle 4** findet sich eine systematische Zusammenstellung der wichtigsten Chromosomenbefunde bei ALL (28, 29, 30, 31), wobei zu berücksichtigen ist, dass die

Korrelation zwischen Zelllinien- bzw. Differenzierungszuordnung und Karyotyp in fast keinem Fall vollständig ist. Somit ist ein zytogenetischer Befund allein kaum jemals pathognomonisch für eine definierte Subgruppe. Überschneidungen sind häufig. Eine wichtige Ausnahme stellt die bei der reifen B-Zell-Leukämie in drei Translokationsvarianten vorkommende Verlagerung des Onkogens c-myc (Translokation mit Bruchpunkt 8q24) dar (32).

Tabelle 4

Chromosomale Aberration	ALL-Subtyp	Besonderheiten	Prognose
t(9;22) Ph ¹	Vorwiegend B-Vorläufer (C-ALL, Pro-B-ALL)		sehr ungünstig
t(4;11)	Pro-B und Prä-B, oft mit myeloischer Koexpression	hyperzellulär	ungünstig
t(1;19)	Prä-B	oft chromosomal unbalanciert (partielle Trisomie 1q)	indifferent
t(8;14)(q24 ;q32) Variante: (2;8) und (8;22)	B-ALL		ungünstig
T(8;14)(q24;q11)	T-ALL		günstig
Hyperdiploidie (>50!) durch multiple Trisomien	C-ALL im Kindesalter		günstig

Bei etwa 30% der kindlichen und etwa 5% der Erwachsenen-ALL zeigt sich eine als prognostisch günstig einzuschätzende Hyperploidie mit > 50 Chromosomen ohne zusätzliche strukturelle Chromosomenaberrationen. Die Prognose wird ungünstiger bei Auftreten zusätzlicher struktureller Aberrationen und entspricht dann der Prognose von ALL mit alleinigen strukturellen Aberrationen (Pseudodiploidie). Indifferent verhalten sich diploide oder fast-diploide Chromosomensätze (bis zu 60% der ALL), wohingegen ein fast-haploider Chromosomensatz (1-3% der ALL) prognostisch ungünstig ist (29, 33). Generell mit einer schlechteren Prognose behaftet sind ALL mit strukturellen Aberrationen (ca. 35% der ALL). Dies gilt besonders für Translokationen mit Beteiligung des Bruchpunktes 11q23 und für Philadelphia-positive ALL (10-20% der Erwachsenen-ALL, 2-6% der kindlichen ALL) (34, 35, 36).

Die mitotische Aktivität und morphologische Qualität der Chromosomen bei der ALL zeigen von allen Leukämien die niedrigsten Werte. Daher variieren die Daten zur Häufigkeit von klonalen Veränderungen stark abhängig von der Präparation. Es ist besondere Sorgfalt und Geschwindigkeit bei Materialentnahme und –versand zur Gewinnung einer größtmöglichen Zahl auswertbarer Zellen geboten. Der Einsatz der In-Situ-Hybridisierung mit Einbeziehung der Interphasezellen ist hier methodisch hilfreich.

3.1.4. Molekulargenetik

Molekularbiologische Methoden nehmen einen zunehmenden Raum in der Diagnostik der Leukämien ein. In der Southern-Blot-Analyse können für die einzelne Leukämie spezifische Genrearrangements im Vergleich zur Keimbahn nachgewiesen werden. Der Nachweis von charakteristischen Translokationen erfolgt sehr empfindlich mit der Polymerase-Chain-Reaction (PCR) und in der Einzelzelle mit FISH (fluorescent-in-situ-hybridization).

a) Southern-Blot-Analyse

Die ALL sind die eigentliche Domäne der Southern-Blot-Analyse. Bei fast allen Leukämien mit Reifungstendenz in die lymphatische Zellreihe finden sich Umlagerungen der Gene, die für die Antigenrezeptoren (Immunglobulin- und T-Zell-Rezeptoren) kodieren. Dabei ist charakteristischerweise bei den unreifen Leukämien nur ein Allel umgelagert, bei den reiferen beide Allele. Andere Kombinationen sind aber möglich. Bei Diagnosestellung finden sich meist eine oder zwei eindeutig umgelagerte Banden, da zu diesem Zeitpunkt die leukämischen Klone überwiegen. Die Zusatzbanden können im Laufe der Therapie verschwinden, der maligne Klon ist nicht mehr nachweisbar. So kann durch Zu- oder Abnahme der Zusatzbande im Vergleich zur Keimbahn der Therapieerfolg abgeschätzt und kontrolliert werden (12).

Eine eindeutige Zuordnung der Leukämien zur B- oder T-Zell-Reihe ist mit Hilfe der Genanalysen nicht möglich. Eine Reifungstendenz in die B-Zell-Reihe ist zwar immer mit einer Umlagerung des Immunglobulins sowie eine Tendenz zur T-Zell-Reihe mit einer Umlagerung des T-Zell-Rezeptors eng assoziiert, es sind jedoch nicht selten linienübergreifende Umlagerungen zu finden. Auch bei den unreifen myeloischen Leukämien (M0) können Umlagerungen von Antigenrezeptoren gefunden werden, gelegentlich sogar bei reiferen Leukämien (12).

Die Southern-Blot-Analyse kann zur Kontrolle des Therapieerfolges eingesetzt werden, da sie den Nachweis des leukämischen Klons im Verlauf erlaubt, und dabei im Gegensatz zur zytogenetischen Untersuchung nicht auf die Proliferation der Zellen angewiesen ist.

b) PCR-Analyse

Diese ist weniger aufwendig und empfindlicher als zytogenetische Untersuchungen und kann spezifische Genveränderungen nachweisen, um die Diagnose zu festigen. Voraussetzungen sind das Vorhandensein eines entsprechenden „Primers“ und eine klinische Verdachtsdiagnose.

Molekularbiologischer Nachweis einer bcr-abl-Translokation

Bei etwa 30% der Patienten mit ALL, gehäuft bei den c-ALL-positiven B-Vorläuferzell-Leukämien, kann bei Diagnosestellung ein Philadelphia-Chromosom nachgewiesen werden, das molekularbiologisch durch den Nachweis des Fusionsgens „bcr-abl“ charakterisiert werden kann (14, 37). Es ist Folge eines Genrearrangements zwischen Chromosom 9 (abl-Genort) und Chromosom 22 (bcr-Genort). Bei der CML liegen die Bruchpunkte charakteristischerweise innerhalb des M-(Major-)bcr-Gens; nur bei <2% der CML-Patienten finden sich Rearrangements im m-(minor-)bcr-Gen (38). Bei der ALL findet man dagegen zu 50% M-bcr- und 50% m-bcr-Genumlagerungen (39). Diese unterschiedlichen bcr-Gen-Bruchpunkte haben als Ergebnis unterschiedliche mRNA-Transkripte (abl/M-bcr- bzw. abl/m-bcr-Transkripte), welche mit der PCR nachweisbar sind (35, 40).

Die PCR dient zur Diagnose einer Philadelphia-positiven ALL; außerdem kann bei Nachweis des ALL-typischen m-bcr-Rearrangements ein primärer Blastenschub bei CML weitgehend ausgeschlossen werden (41). Weiterhin hat die PCR gegenüber der Karyotypanalyse den Vorteil der höheren Sensitivität. Sie ist in der Lage, nach der Therapie minimale Reste leukämischer Zellen nachzuweisen und deren Zu- oder Abnahme im Verlauf der Erkrankung zu quantifizieren. Ist nach einer Stammzelltransplantation das PCR-Ergebnis positiv, kann in einem sehr frühen Stadium eine Therapie erwogen werden, auch wenn die zytogenetischen Befunde zu diesem Zeitpunkt noch unauffällig sind (40, 42, 43).

Nachweis von Antigenrezeptorumlagerungen

Mit Hilfe der PCR können auch die für die ALL typischen Antigenrezeptorumlagerungen nachgewiesen werden. Dazu werden sog. „Konsensusprimer“ verwandt, die die relativ konstanten Genabschnitte innerhalb der Antigenrezeptorgene erfassen (44). Dies erlaubt den Nachweis klonaler Zellen, die bei Diagnosestellung in großen Mengen vorliegen. Allerdings werden mit diesen Primern nicht nur die leukämischen, klonalen B-Zell-Genabschnitte amplifiziert, sondern ebenso die Genumlagerungen, die physiologischerweise in B-Zellen vorkommen, sodass ein „Hintergrundamplifikat“ entsteht. Durch dieses Hintergrundamplifikat kann die eindeutige Identifizierung der klonalen Zellen im Verlauf der Therapie erschwert werden, wenn nur wenige residuelle Zellen der Leukämie vorliegen. Somit kann bei dieser speziellen Fragestellung die sonst hohe Sensitivität nicht erreicht werden. Vermeiden lässt sich das durch den (sehr aufwendigen) Einsatz von klon- (bzw. patienten-) spezifischen Primersequenzen, die für die jeweilige ALL typisch sind. Hierbei wird durch Sequenzierung des PCR-Amplifikats die klonspezifische Sequenz bestimmt, um im Verlauf der Erkrankung bei

einem Patienten durch eigens hergestellte Sonden nach Resten der leukämischen Zellen zu suchen. Damit lassen sich auch kleinste Mengen residueller Zellen nachweisen (45, 46).

Nachweis von Rearrangements des MLL-Gens am Genort 11q23

Veränderungen des MLL- (myeloid-lymphoid leukaemia) Gens finden sich häufig bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie vom Typ FAB M4 und M5, akuten lymphatischen Leukämien und sekundären Leukämien, vor allem jedoch bei Patienten, die mit Etoposid behandelt wurden. Dieses Gen ist auf dem langen Arm von Chromosom 11 im Bereich der Bande 23 (11q23) lokalisiert und an Translokationen mit verschiedenen Genen auf anderen Chromosomen beteiligt. Die Prognose bei Veränderungen des MLL-Gens auf 11q23 ist schlecht (20, 47, 48). Daraus ergeben sich therapeutische Konsequenzen beim molekularbiologischen Nachweis der Beteiligung des MLL-Gens.

c) FISH-Technik bei ALL

Diese Technik findet Anwendung bei Verdacht auf spezifische Genveränderungen. Meist liegt dabei eine klinische, zytologische oder immunologische Verdachtsdiagnose vor oder es ergeben sich zytogenetische Anhaltspunkte, die eine FISH-Analyse nahe legen.

Mittels der FISH-Methode können mit Hilfe spezieller Gensonden Chromosomenveränderungen bei der ALL, ähnlich wie bei der AML, entdeckt werden (49). Zwar kommt die Analyse für die Antigenrezeptorumlagerungen bisher nicht in Frage, da diese Genabschnitte zu kurz sind für diese Technik, aber andere, bei der ALL häufig auftretende Umlagerungen sind dieser Methode sehr gut zugänglich. Zunehmende Bedeutung kommt der FISH-Analyse beim Nachweis der bcr-abl-Genumlagerungen zu. Sie kann aberrante Umlagerungen noch nachweisen, die von der gängigen PCR nicht mehr entdeckt werden und zusätzlich quantitativ eine eventuelle Reduktion des malignen Klons unter Therapie verfolgen (50, 51). Zusätzlich kann durch morphologische Untersuchungen die Reifungstendenz der Zellen mit Umlagerungen bestimmt werden.

Durch die FISH-Analyse können, ähnlich wie bei der AML, auch bei der ALL numerische und andere strukturelle Chromosomenveränderungen sowie bisher nicht genauer klassifizierte genetische Veränderungen entdeckt und über den Verlauf der Erkrankung kontrolliert werden. Weiterhin ist es möglich, Chromosomenaberrationen, deren Zuordnung mittels der Bandentechnik in der klassischen Zytogenetik schwierig ist, einzuordnen. Hierbei können unter Verwendung spezieller Sonden die Chromosomen bestimmt werden, die an einer Translokation beteiligt sind. Die leukämischen Zellen können mit einer Sensitivität von 1-5% über den

Krankheitsverlauf nachgewiesen werden, auch wenn sie sich nicht in der Teilung befinden. Dadurch ist eine engmaschige Kontrolle des Therapieerfolges möglich.

Um numerische und strukturelle Chromosomenaberrationen einzelner Patienten zu erfassen können bei Stellung der Diagnose sowohl Sonden für die einzelnen Chromosomen als auch spezielle Sonden für den Nachweis von ALL-typischen Genrearrangements (t(9;22), t(4;11), t(1;19)) verwendet werden. Durch Nachweis bestimmter Marker lassen sich dann möglicherweise prognostische Aussagen treffen (z.B. schlechte Prognose bei t(9;22)) und Verlaufskontrollen durchführen.

Bisher hat die FISH-Untersuchung die konventionelle Zytogenetik nicht ersetzt; diese sollte immer durchgeführt werden. Allerdings werden in Zukunft sicher weitere spezifische Sonden zur Erfassung ALL-typischer Translokationen entwickelt werden (12).

4. Anamnese und klinische Symptomatik

Die Symptomatik ergibt sich meist rasch, manchmal aber auch schleichend aus der Expansion des malignen Klon im Knochenmark und anderen Organen: Anämie mit Müdigkeit und allgemeiner Schwäche, Granulozytopenie mit Infektanfälligkeit, Thrombozytopenie mit Blutungsneigung. Fieber kann ohne Infekt auftreten, ist meist aber durch eine entzündliche Begleiterkrankung (Pneumonie, Tonsillitis, Proktitis) bedingt. Durch leukämische Infiltration des Knochenmarkes kann es zu Knochenschmerzen kommen (12).

Ist das Zentralnervensystem betroffen, treten Kopfschmerzen und Ausfall von Hirnnerven auf. Als Folge eines Mediastinaltumors und Pleuraergusses, was nicht selten bei der T-Vorläufer-ALL vorkommt, kann es zu Dyspnoe und Reizhusten kommen. Weiterhin findet man häufig eine Hepatosplenomegalie sowie Lymphome; eher selten beim Erwachsenen sind leukämische Infiltrationen der Hoden (12).

Da präleukämische Erkrankungen bei der ALL sehr selten sind, ist die Anamnese meist nicht sehr ergiebig. Auch die klinische Differenzialdiagnose ist zum Teil nicht leicht zu stellen. Beispielsweise kann eine aleukämische Form mit dem Bild einer aplastischen Anämie einhergehen. Bei Anämie und Thrombozytopenie lässt sich die Abgrenzung gegen schwere Infektionskrankheiten mit Lymphozytose und Organvergrößerung meist schnell treffen. Dagegen ist die Differenzierung gegenüber lymphoblastischen Lymphomen schwierig; eine ausgedehnte Infiltration des Knochenmarks durch mehr als 25% der malignen Zellen wird übereinkunftsgemäß als Leukämie bezeichnet (12).

5. Differenzialdiagnose

Zunächst sind von den akuten lymphatischen Leukämien die reaktiven Lymphozytosen (v. a. im peripheren Blut) differenzialdiagnostisch abzugrenzen. Hierbei sind der immunologische Nachweis von TdT (terminale Desoxynukleotidtransferase) sowie Klinik und Zytomorphologie hilfreich. Die TdT ist eine Polymerase und war einer der ersten Marker für unreife lymphatische Zellen. Während bei reaktiven Lymphozytosen die TdT negativ ist, ist sie bei allen ALL-Subtypen bis auf die reife B-ALL intrazytoplasmatisch exprimiert und erlaubt somit eine relativ sichere Abgrenzung der akuten lymphatischen Leukämien (52).

T-Zell-Leukämien sind ohne Kenntnis der klinischen Befunde immunologisch nicht immer von ausschwemmenden T-Zell-Non-Hodgkin-Lymphomen zu unterscheiden. Hier kommen als Differenzialdiagnose vor allem die ausschwemmenden T-NHL der Haut, z.B. das Sezary-Syndrom, in Betracht. Weiterhin ist das CD7 nicht streng linienspezifisch, da es auch auf einer kleinen Population myeloischer Zellen vorkommt. Ähnliches gilt für die TdT, welche in ca. 20% der AML ebenfalls nachweisbar ist (12).

Die T-LGL-Leukämie ist schwer abgrenzbar von reaktiven LGL-Zellproliferationen bei akuten Virusinfektionen wie EBV, CMV, HIV. Hier muss mit molekularbiologischen Methoden der Klonalitätsnachweis geführt werden; gleiches gilt für die NK-LGL-Leukämie (12).

Morphologisch und zytochemisch undifferenzierte, POX-negative akute myeloische Leukämien lassen sich dagegen immunologisch abgrenzen, was wichtig ist zur Differenzierung der AML M0. Dies erfolgt durch den Nachweis myeloischer Oberflächenantigene oder zytoplasmatischer Myeloperoxidase, da der Antikörper gegen die Myeloperoxidase schon mit dem Enzym reagiert, wenn dieses noch kein Substrat umsetzt und somit zytochemisch noch nicht nachweisbar ist.

Mit Hilfe der Immunzytologie konnte der Anteil der akuten undifferenzierten Leukämien (AUL), die keiner Zelllinie zuzuordnen sind, auf unter 1% gesenkt werden. Des Weiteren kann mittels der immunzytologischen Diagnostik eine sichere Zuordnung der lymphatischen Leukämien zur T- oder B-Zell-Reihe erfolgen (s. Tab. 1, Abschnitt „Diagnose und Klassifikation“) (17).

Lymphoblastische Leukämien und lymphoblastische Lymphome sind nach WHO-Klassifikation biologisch gesehen ein und dieselbe Erkrankung mit unterschiedlicher klinischer Erscheinung. Nach WHO-Klassifikation sollte der Begriff der Leukämie der leukämischen Phase der Precursor-Neoplasien der T- oder B-Zell-Reihe vorbehalten sein (12).

Weiterhin lassen sich immunzytologisch biphänotypische sowie „bilineage“ (Hybrid) – Leukämien abgrenzen. Bei der biphänotypischen Leukämie findet man Antigene

unterschiedlicher Zelllinien auf ein und derselben Blastzelle, z.B. eine Koexpression von T- oder B- lymphatischen und myeloischen Antigenen auf einer Zelle, seltener eine gleichzeitige Expression von T- und B-Linien-Antigenen auf einer Zelle der ALL (53). Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Linienspezifität und der damit unterschiedlichen Beweiskraft einzelner Antigene wurde von Catovsky ein Bewertungssystem vorgeschlagen, das von der EGIL (European Group for the Immunological Classification of Acute Leukemias) erweitert wurde (54).

Auf der Grundlage dieses Bewertungssystems werden diejenigen Leukämien als biphänotypisch bezeichnet, bei denen die Summe der Punkte positiver lymphatischer und positiver myeloischer Antigene jeweils >2 beträgt, wobei „positiv“ eine Oberflächenantigenexpression auf $>20\%$ der Blasten oder die Expression eines intrazellulären Antigens bei $>10\%$ der Blasten bedeutet.

Damit wurde eine gemeinsame Bewertungsgrundlage für eine bessere Vergleichbarkeit der Daten angestrebt, die jedoch nur erreicht werden kann, wenn standardisierte Antikörperklone und Messtechniken verwendet werden und eine einheitliche Untersuchung aller genannten Antigene erfolgt. Weltweit werden Anstrengungen in dieser Richtung unternommen.

Weiterhin wurde eine Begrenzung auf Leukämien mit höhergradiger Aberranz angestrebt. Es werden jedoch nur die Zahl der aberranten Antigene und ihr Grad an Linienspezifität berücksichtigt, nicht jedoch die Expressionsstärke, d.h. die schwache Expression eines intrazellulären Antigens bei 11% der Blasten wird genauso beurteilt wie dessen starke Expression bei 100% der Blasten. Damit wird die kleine Zahl an Leukämien, bei denen eine gleichstarke Expression myeloischer und lymphatischer Antigene eine Zuordnung zu einer Zelllinie nicht mehr erlaubt, nur unzureichend eingegrenzt (12).

Wenn die Blasten sowohl lymphatische als auch myeloische Antigene exprimieren, die Kriterien einer biphänotypischen Leukämie jedoch nicht erfüllt sind und die Expression der lymphatischen Antigene überwiegt, liegt eine „My+“ akute lymphatische Leukämie vor.

Eine „bilineage“ (Hybrid) –Leukämie liegt vor, wenn Antigene unterschiedlicher Linienzugehörigkeit auf getrennten Blastenpopulationen nachweisbar sind. Dabei muss berücksichtigt werden, dass diese „getrennten“ Blastenpopulationen auch häufig Gemeinsamkeiten aufweisen und meistens einem Klon angehören (55). Somit ist die Abgrenzung der „bilineage“ von der biphänotypischen Leukämie oft unscharf und möglicherweise auch artifiziell. Ebenfalls inbegriffen in die Definition der „bilineage“ – Leukämie ist der „lineage switch“, der mittels Nachweis von Genotypgemeinschaften mit dem Ausgangsklon von der sekundären (genotypdifferenten) Leukämie unterschieden werden kann.

Eine weitere Differenzialdiagnose ist der lymphatische Blastenschub der CML. Neben Anamnese und Klinik (Splenomegalie) ist hier die molekularbiologische Untersuchung (PCR) hilfreich, um den B-lymphatischen Blastenschub der CML von der Philadelphia-Chromosom-positiven ALL der B-Zell-Reihe zu unterscheiden (41). Bei etwa 30% der Patienten mit ALL kann bei Diagnosestellung ein Philadelphia-Chromosom nachgewiesen werden, das molekularbiologisch durch den Nachweis des Fusionsgens „bcr-abl“ charakterisiert werden kann (s. Abschnitt „Spezielle Diagnostik – molekularbiologischer Nachweis einer bcr-abl-Translokation“).

6. Therapie nach Risikogruppen

6.1. Allgemeines, Entwicklung

Die weltweiten Therapieergebnisse lassen eine Remissionsrate von 65-85% erwarten; etwa ein Drittel der Patienten wird dauerhaft geheilt (56, 57, 58). In Deutschland erfolgt einheitlich die Therapie nach der „Multizentrischen Therapiestudie der akuten lymphatischen Leukämie des Erwachsenen“, die seit 1981 unter Leitung von Prof. Hoelzer in Frankfurt durchgeführt wird und an der schon sehr früh die überwiegende Zahl der hämatologischen Zentren der BRD teilnahm (59).

Vor Beginn der Studie war die Prognose der ALL unter der Behandlung mit Prednison und Vincristin und teilweise Anthrazyklinen schlecht, denn trotz einer Remissionsrate von 70% lag die mittlere Remissionsdauer bei einem Jahr und die Zahl der Langzeitremissionen unter 10%. Zur selben Zeit waren die Erfolge im pädiatrischen Bereich viel größer: 90% Remissionen, über 40% Langzeitremissionen. Daraufhin wurde ein pädiatrisches Protokoll, speziell das Therapieschema von Prof. Riehm aus Berlin, für Erwachsene angepasst. Dieser Therapieplan enthielt einige auch heute noch gültige Elemente, wie die zweiphasige Induktion mit prophylaktischer ZNS-Bestrahlung in der Induktionsphase II, ähnliche Konsolidation in verkürzter Form und die zweijährige Erhaltungstherapie. Die GMALL-Studiengruppe (German Multicenter ALL Study Group) umfasst derzeit über 100 Kliniken, das Patientenaufkommen beträgt bis 700 pro Jahr; bundesweit werden flächendeckend alle ALL-Patienten erfasst. Obligat sind dabei zentrale Diagnostik in Morphologie, Immunologie, Zytogenetik, Molekulargenetik und Erfassung der minimalen Resterkrankung (MRD) (40, 42, 45, 46, 60, 61). Die Hauptaufgaben der Studie liegen dabei in der Evaluation der Therapieerfolge und Nebenwirkungen sowie der Definition von Risikofaktoren. Gefördert wird die Studie von bundesministerialen Stellen sowie von der Deutschen Krebshilfe.

In der Entwicklung der Studie zeigt sich bei konstant hoher Rekrutierungsrate und steigender Zahl teilnehmender Kliniken vor allem eine Verbesserung der Remissionsrate von 71% (01/81) auf 81% (05/93) und eine Reduktion der Früh Todesfälle von 11% auf 7%. Die Remissionsdauer verbesserte sich ebenfalls im Laufe der Jahre stetig, wenn auch nur gering. Mit einem Beobachtungszeitraum von maximal 20 Jahren liegt die Überlebenswahrscheinlichkeit aller Studienpatienten bei 35%. Diese Zahl konnte in keiner Teilstudie erhöht werden, was mit der veränderten Altersstruktur zu tun hat: der Altersmittelwert ist von 25 auf 30 Jahre gestiegen, und es hat sich der Anteil der über 50-Jährigen, und damit der Philadelphia-Chromosom-positiven Patienten, mit dem höchsten Risiko von 8% auf 14% erhöht (12).

Mit der Wahrscheinlichkeit einer anhaltenden kompletten Remission (CCR-Rate) von über 50% zeigt die T-ALL günstige Ergebnisse. Aus der Zeit vor dieser Studie zeigen historische Vergleichsgruppen eine CCR-Wahrscheinlichkeit von 10%; dabei war wohl die Zufügung von Cyclophosphamid und Cytosin-Arabinosid entscheidend für diese Verbesserung. Mit einer CCR-Rate von über 60% ist die thymische oder kortikale T-ALL die prognostisch günstigste Untergruppe der T-Zell-Leukämien. Davon abzugrenzen sind die prognostisch wesentlich ungünstigeren Formen der präthymischen oder early T-ALL sowie die reife oder mature T-ALL, welche nur eine CCR-Rate von unter 30% erreichen (12).

Bei älteren Studienpatienten, deren Alter bei Diagnosestellung zwischen 50 und 65 Jahren liegt, besteht eine CCR-Wahrscheinlichkeit von unter 30%. Die Remissionsrate dieser Gruppe liegt bei 70%, die Früh Todesfälle konstant bei 20%. Seitdem die vierte Studie vorliegt, werden die Patienten dieser Altersgruppe auch bei Vorliegen von prognostisch ungünstigen Faktoren genauso wie Patienten ohne Risikofaktoren nach einem Standardrisikoprotokoll behandelt, nicht mehr nach einem Hochrisikoprotokoll (12).

Die Untergruppe der B-ALL wurde bis 1984 nach ALL-Protokollen behandelt, zeigte dabei aber einen sehr ungünstigen Verlauf. Die Prognose verbesserte sich beträchtlich nach der Umstellung auf ein pädiatrisches B-NHL-Protokoll mit intensiver Therapie in sechs Blöcken über vier Monate, wobei vor allem HD-MTX verwendet wird (12).

Die Pro-B-ALL weist in 78% der Fälle eine Konkordanz mit der Translokation t(4;11) auf und wurde der Hochrisikogruppe zugeordnet, wodurch sich die früher schlechte Prognose auf eine CCR-Rate von 40% verbesserte (12).

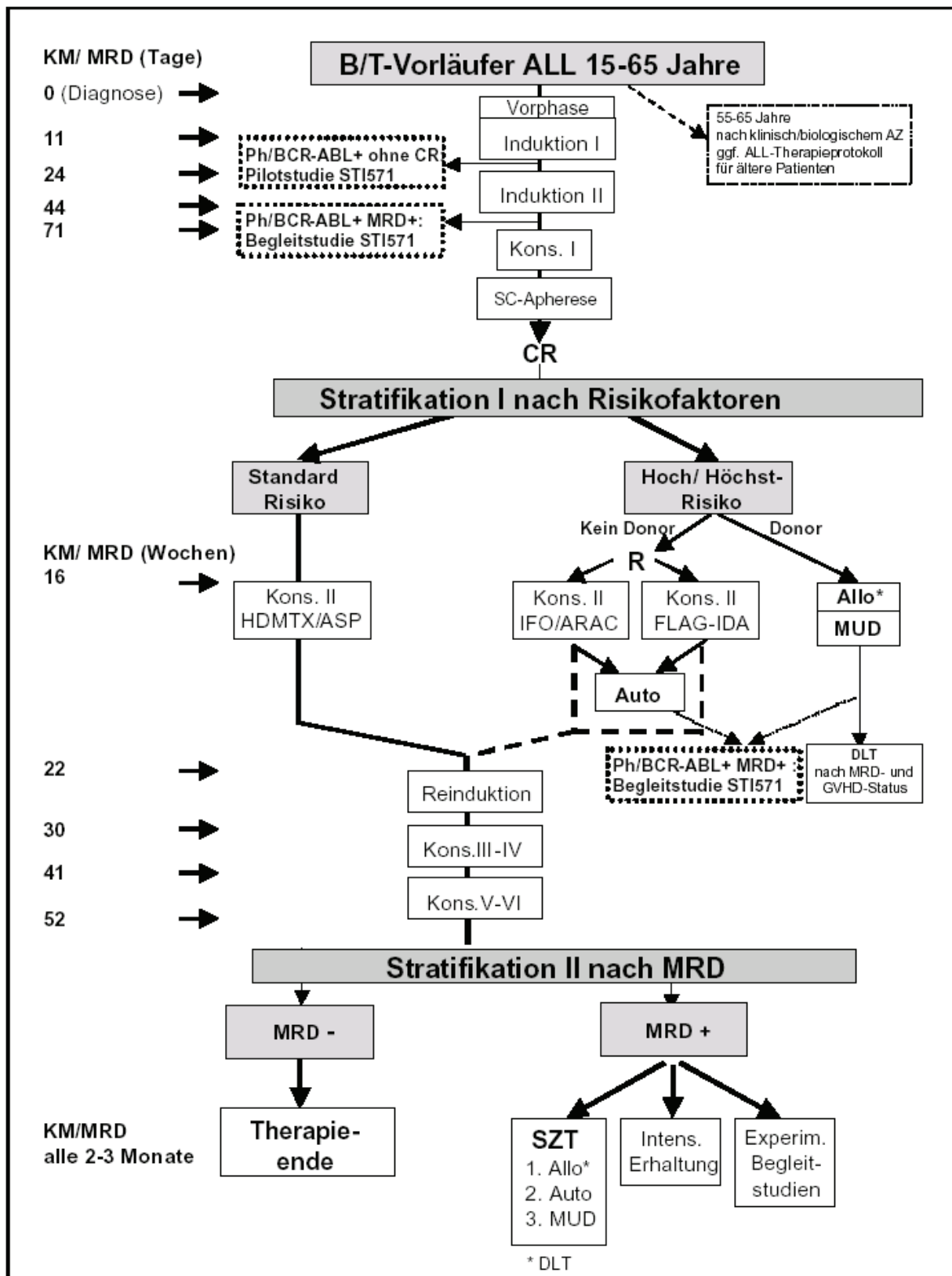
Die Philadelphia-positive ALL mit Nachweis von t(9;22) und/oder bcr-abl-Rearrangement ist die prognostisch ungünstigste Gruppe. Aufgrund der hohen Inzidenz von 55% aller c-ALL im Kollektiv der deutschen ALL-Studiengruppe und damit 25.30% aller Studienpatienten ist diese Tatsache relevant. Mit zunehmendem Patientenalter nimmt die Häufigkeit zu. Die

Behandlungsergebnisse waren durchweg schlecht, mit einer Rate der kompletten Remission von 60%, einer medianen Dauer der Remission von weniger als zehn Monaten und einem leukämiefreien Überleben von 0-15%. Seit 2001 gelang aufgrund der Verbesserung der Stammzelltransplantation eine Steigerung, d.h. in der Studie 05/93, Auswertung 02/02 lag das erkrankungsfreie Überleben nach allogener Stammzelltransplantation in erster CR über 30% (12).

6.2. Therapieprotokolle

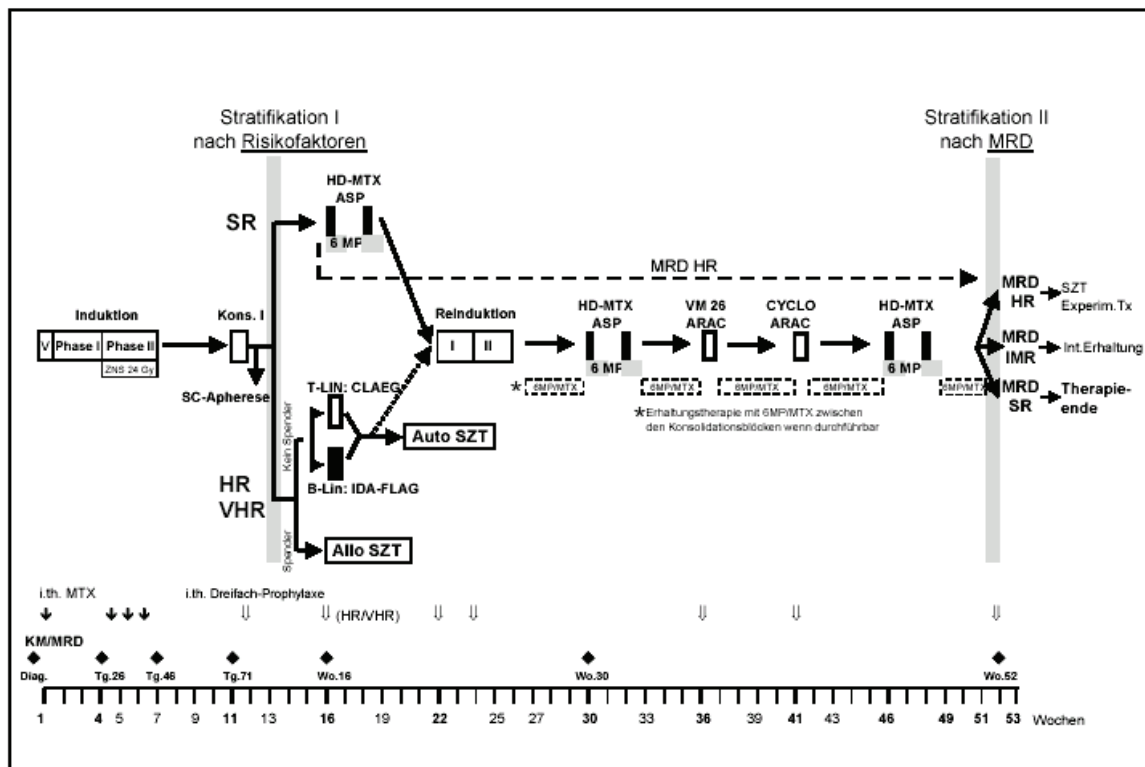
Siehe folgende Seiten.

Multizentrische Therapiestudie der ALL des Erwachsenen 06/1999 Übersichtsplan



aus: Prof. Dr. D. Hoelzer et al.: Multizentrische Therapiestudie der akuten lymphatischen Leukämie des Erwachsenen 06/99

Multizentrische Therapiestudie der ALL des Erwachsenen 07/2003 Übersichtsplan



aus: Prof. Dr. D. Hoelzer et al.: Multizentrische Therapieoptimierungsstudie der akuten lymphatischen Leukämie bei Erwachsenen und Adoleszenten ab 15 Jahren GMALL 07/2003

Weitere verwendete Therapieprotokolle:

B-ALL-Protokoll 05/93 aus „Multizentrische Therapiestudie der akuten lymphatischen Leukämie des Erwachsenen 06/99“

Konditionierung vor PBSZT: klassische TBI / Cyclophosphamid

Tag -7 1x2 Gy

Tag -6 2x2 Gy

Tag -5 2x2 Gy

Tag -4 1x2 Gy

Tag -3 Cyclophosphamid 60 mg/kg KG, Mesna Gesamtdosis
= Cyclophosphamiddosis in 5 Einzeldosen

Tag -2 Cyclophosphamid 60 mg/kg KG, Mesna Gesamtdosis
= Cyclophosphamiddosis in 5 Einzeldosen

Tag -1 Pause

Tag 0 PBSZT

Multizentrische Therapiestudie: Therapie rezidivierter akuter lymphatischer Leukämien,
aktualisiertes Studienprotokoll 02/92 vom 1.12.95

AIDA-Protokoll für akute myeloische Leukämien

Prof. Dr. D. Niederwieser et al.: Multizentrische Studie der OSHO;
Kurzbezeichnung AML 2002 # 061

Ziele der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, in einem Kollektiv von 23 Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie den Verlauf der Erkrankung mit Hilfe der Analyse von Oberflächenmarkern zu überwachen. Dabei stellt sich die Frage, ob durch diese Methode genauere Aussagen zum Verhalten sowohl der gesunden als auch der erkrankten Zellen über einen längeren Verlauf möglich sind; ob die Methode die Möglichkeit der Früherkennung eines Rezidivs bzw. Veränderungen der hämatopoetischen Zellen, die auf ein Rezidiv hindeuten könnten, bietet, auch im Vergleich zu den herkömmlichen zytologischen Methoden, und sich damit evtl. auch Konsequenzen für die Therapie und für die Prognose ergeben. Weiterhin sollen andere, nicht zur Erkrankung im engeren Sinne gehörende Veränderungen der Zellen unterschiedlicher Genese im Knochenmark erfasst und in Bezug auf die Erkrankung hinsichtlich einer etwaigen Relevanz für den Verlauf dieser beurteilt werden.

Methodik

1. Patienten

Es wurde ein Kollektiv von 23 Patienten untersucht, darunter 13 weibliche und 10 männliche Patienten. Das Alter der Patienten bei der Erstdiagnose betrug im Mittel 33,4 Jahre (jüngster Patient 17 Jahre, ältester Patient 78 Jahre). Zur Untersuchung wurden archivierte Patientenakten sowie immunzytologische Daten aus der Durchflusszytometrie verwendet.

2. Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung wurde durch Knochenmarkpunktion gewonnenes Knochenmark (-blut) verwendet, welches mittels Durchflusszytometrie analysiert wurde.

3. Methode: Durchflusszytometrie

Bei der Durchflusszytometrie handelt es sich um eine Messung zellulärer Eigenschaften von Zellen, die sich mit einem Flüssigkeitsstrom an einem Laserstrahl und fest installierten Detektoren vorbeibewegen. Sie erlaubt eine rasche und quantitative multiparametrische Analyse heterogener Zellpopulationen auf Einzellbasis. In der Regel lassen sich bei den kommerziell erhältlichen Zytometern fünf bis sieben Eigenschaften pro Zelle bestimmen. Dabei passieren die Zellen in einem Flüssigkeitsstrom den Laserstrahl, dessen Licht von den Zellen gestreut und von an die Zellen gebundenen Fluorophoren aufgenommen und als längerwelliges Licht emittiert werden. Das gestreute oder emittierte Licht wird durch spezifische Filter und Halbteilerspiegel auf Detektoren geleitet, die elektrische Impulse auslösen, welche proportional zur Menge des Lichts sind, die auf den Detektor auftrifft. Danach erfolgt die Konvertierung in ein Digitalsignal. Das resultierende Signal ist proportional zur Menge des emittierten Lichts.

Sobald eine Zelle mit dem Flüssigkeitsstrom in den Strahl des Lasers gelangt, wird das Licht um 360°, also entlang der Achse des Laserstrahls gestreut und in einem Detektor gemessen; daraus ergibt sich ein Parameter, der Vorwärtsstreulicht (Forward Scatter, FSC) genannt wird. Das Vorwärtsstreulicht ist ungefähr proportional zur Zellgröße. Das gestreute Licht im rechten Winkel zum Laserstrahl heißt Seitwärtsstreulicht (Sideward Scatter, SSC). Dieses besteht vorwiegend aus Licht, das an internen Zellstrukturen reflektiert worden ist, daher korreliert

dieser Parameter mit der Zellgranularität. FSC und SSC sind Parameter, die intrinsische Eigenschaften ohne Zugabe von exogenen Reagenzien messen.

Darüber hinaus kommt es zu einer Fluoreszenz, die durch Fluorochrome in oder auf der Zelle verursacht wird. Die Lichtmenge, die gemessen wird, ist proportional zur Menge der Fluorochrome, die in oder auf der Zelle vorhanden sind. Dabei wird jede Wellenlänge von einem unterschiedlichen Detektor aufgenommen. Das am häufigsten verwendete Fluorochrom für die Immunfluoreszenz ist Fluorescein-Isiothiocyanat (FITC), das ein Absorptionsmaximum bei 494 nm und eine Emission bei 520nm hat. Typischerweise wird als zweites Fluorochrom Phycoerythrin (PE) mit einem Absorptionsmaximum bei 488 nm und einer Emission bei 560 verwendet. Die Entwicklung weiterer Fluorochrome und Peridininchlorophyllprotein (PerCP) erlauben die Durchführung von Dreifarbenanalysen.

Die Fluorochrome sind an Antikörper gekoppelt, wobei die Antikörper für die Spezifität und die Fluorochrome für das Fluoreszenzsignal verantwortlich sind. Die verwendeten Antikörper sind monoklonal; sie werden von einer Hybridomzelle, d.h. einer immortalisierten Zelle aus der Fusion einer immunisierten B-Zelle mit Myelomzellen, gebildet. Monoklonale Antikörper sind spezifisch gegen ein Epitop gerichtet und erlauben eine genaue Identifizierung und Selektion von Zellen anhand ihrer Oberflächenmarkerexpression. Um eine abgegrenzte Zellpopulation identifizieren zu können, kann es erforderlich sein, zwei oder mehr verschiedene monoklonale Antikörper zu verwenden, da einige Zellpopulationen gemeinsame Epitope teilen können.

Für die Durchflusszytometrie kann die direkte oder die indirekte Immunfluoreszenz verwendet werden. Die indirekte Methode hat den Vorteil der höheren Sensitivität und ist möglicherweise geeigneter zum Nachweis von Antigenen, die in sehr niedriger Dichte exprimiert werden. Für die meisten Anwendungen wird die direkte Immunfluoreszenz verwendet. Sie erlaubt durch die Verwendung direkt konjugierter Antikörper die Verwendung von Vollblutlysetechniken sowie eine problemlose mehrparametrische Analyse bei der Datenauswertung. Eine Multiparameteranalyse kann die Informationsmenge über die Antigenverteilung erhöhen.

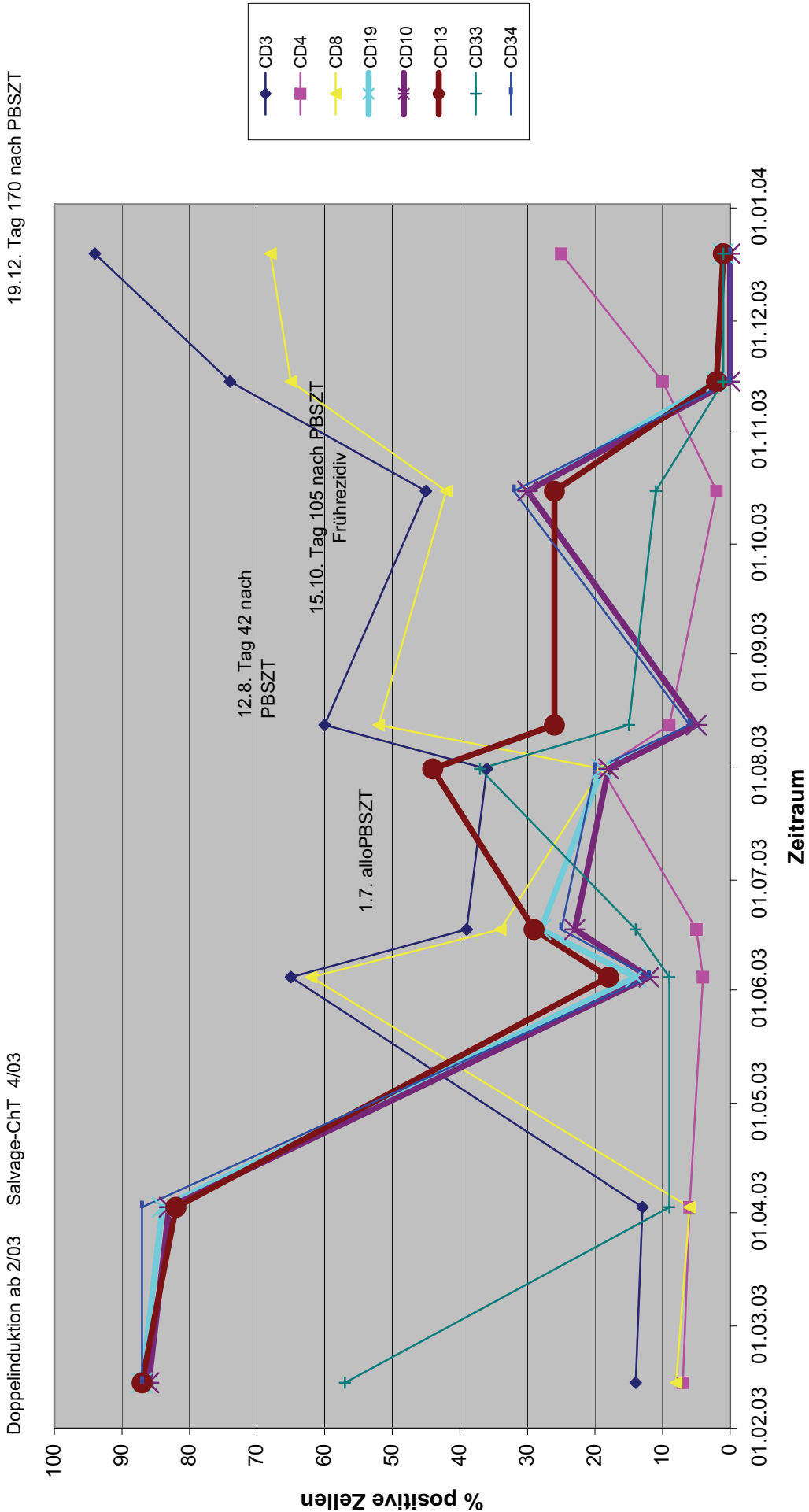
Wie bei anderen klinischen Assays muss auch bei der Durchflusszytometrie eine regelmäßige Qualitätskontrolle erfolgen. Sie erfolgt durch regelmäßige Kalibrierung des Gerätes, positive und negative Kontrollen, die gleichzeitig mit dem klinischen Test durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass der Assay an dem gegebenen Tag ausreichend genau funktioniert sowie durch eine sorgfältige Probenbehandlung und Aufarbeitung (Übersichtsarbeit zum Thema 62).

Ergebnisse

Auf den folgenden Seiten sind die Verläufe der Marker für jeden Patienten grafisch dargestellt, auf die dann in der Diskussion, welche sich im Anschluss an die Ergebnisse befindet, im Einzelnen eingegangen wird. Zu jeder Grafik findet sich der Therapieverlauf des jeweiligen Patienten.

In den Grafiken ist am oberen Rand die zu dem entsprechenden Zeitpunkt durchgeführte Therapie vermerkt. Unter den Grafiken befindet sich eine Auflistung der zytologischen Ergebnisse mit Angabe der Blastenzahlen in Prozent zu den jeweiligen Zeitpunkten. Es konnte nicht zu jedem Zeitpunkt einer immunzytologischen Untersuchung ein zytologischer Befund in den Akten der Patienten gefunden werden, weshalb die Anzahl der immunzytologischen Ergebnisse teilweise von der der zytologischen Ergebnisse abweicht. Weiterhin sind Transplantationen und Rezidive in den Kurven verzeichnet.

Patient 1, männlich, 35 Jahre, c-ALL bcr-abl+



Zytologie, Blasten :	13.02.03	02.04.03	17.06.03	31.07.03	15.10.03	14.11.03	19.12.03
	> 90%	> 90%	50-60%	< 5%	21,6%	Aplasie	< 5%

Therapieverlauf von Patient 1, männlich, geb. 29.12.1967, Alter bei ED 35 Jahre

Bei dem Patienten wurde 2/2003 die Erstdiagnose einer biphänotypischen Leukämie gestellt, welche später als bcr-abl-positive c-ALL mit Koexpression myeloischer Marker eingestuft wurde.

Doppelinduktionschemotherapie (Doxorubicin/Ara-C, OSHO 2002, Intergroup) ab 2/2003

Therapieevaluation: Blastenpersistenz

Salvagechemotherapie (hAC - AraC/Cyclophosphamid) ab 4/03

Therapieevaluation: Blastenpersistenz

Ab 24.06.2003	Konditionierung vor PBSZT mit Treosulfan und Cyclophosphamid
01.07.2003	allogene PBSZT
15.10.2003	Frührezidiv der c-ALL intrathekal-Prophylaxe 40 mg Ara-C, 15 mg MTX, 4 mg Dexamethason Absetzen der Immunsuppression zur Nutzung des GvHD
11/2003	histologisch Feststellung einer GvHD °2 des Darmes, klinisch Diarrhoen 2 x 200 mg CSA p.o. 60 mg Prednisolon i.v. 2 x 5mg/kgKG Infliximab i.v. 2 x 3 mg Budesonid
15.11.2003	2 mg Vincristin i.v.
1/04	erneute Einweisung wegen chronischer GvHD des Darmes weiter CSA, Prednisolon und Budesonid wie oben 3 x 500 mg Mesalazin p.o.

Der Patient verstarb im April 2004 an der chronischen GvHD.

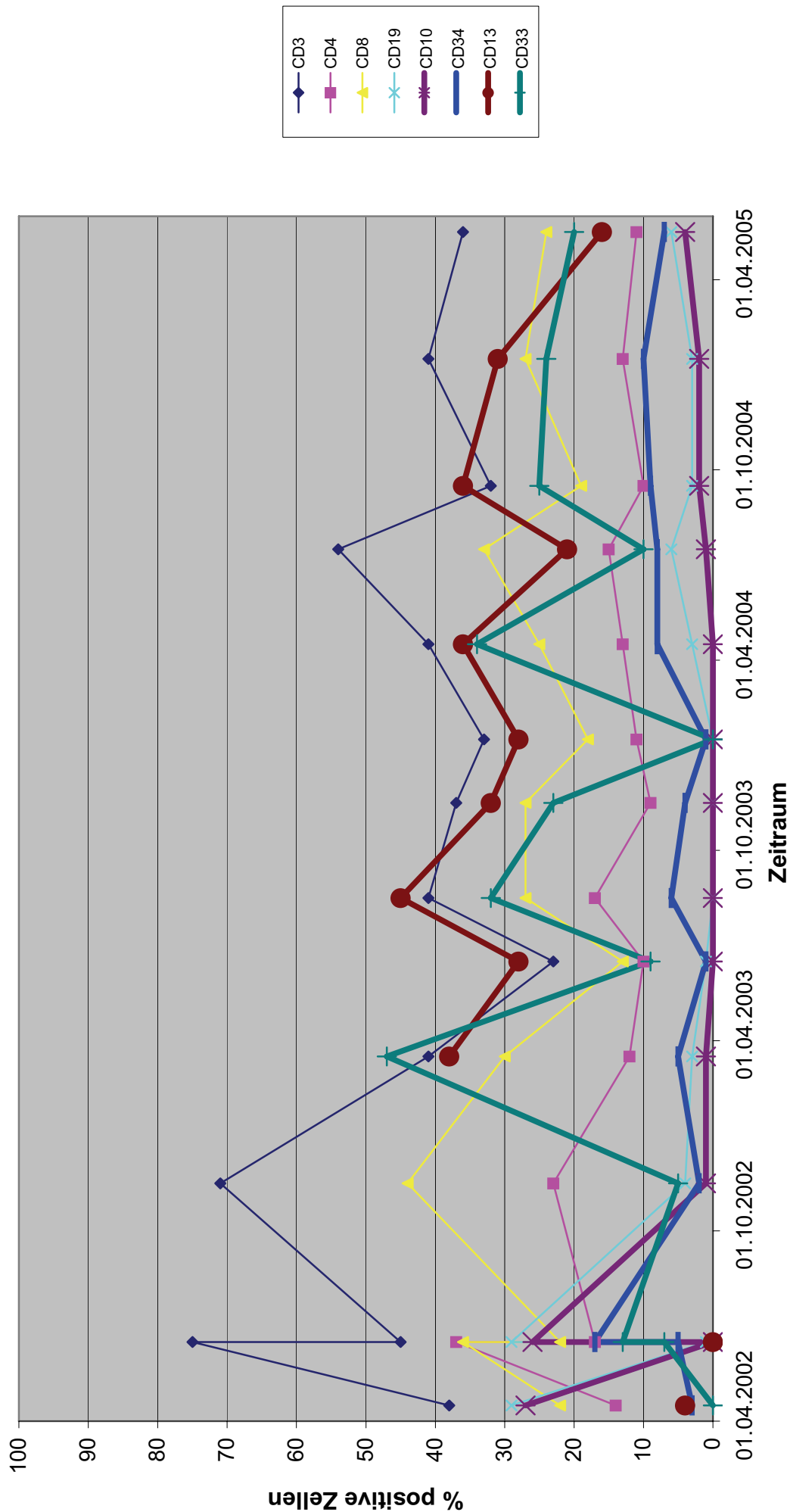
Zytologie bei Erstdiagnose

13.02.2003

Z: subtotale Infiltration durch kleine blastäre Zellen, genaue Zuordnung aufgrund mangelnden Materials nicht möglich.

Patient 2, weiblich, 43 Jahre, c-ALL bcr-abl+

K. 4 ab 7.5. K. 6 ab 14.8. Kurs 2 ab 23.6. Kurs 4 ab 3.11. Kurs 6 ab 20.4.
 iET: Kurs 1 ab 25.3. Kurs 3 ab 1.9. Kurs 5 ab 2.2.



Zytologie, Blasten :	06/01	26.04.02	10.06.02	24.06.02	06.11.02	01.10.2003	27.03.03	01.04.2004	11.11.03	20.01.04	18.04.04	05.07.04	28.09.04
	> 90%	7%	9%	8,5%	5,8%	< 5%	< 5%	< 5%	9,4%	< 5%	7%	< 5%	< 5%

Therapieverlauf von Patient 2, weiblich, geb. 22.10.1957, Alter bei ED 43 Jahre

Bei der Patientin wurde 6/2001 die Erstdiagnose einer T-ALL gestellt, welche zu einem späteren Zeitpunkt als c-ALL eingestuft wurde.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 13.06.2001 Vorphase

ab 19.06.2001 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2, Reinduktion 1, Reinduktion 2

histologisch komplette Remission nach Induktion 1

ab 02/01 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll; intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 – 6

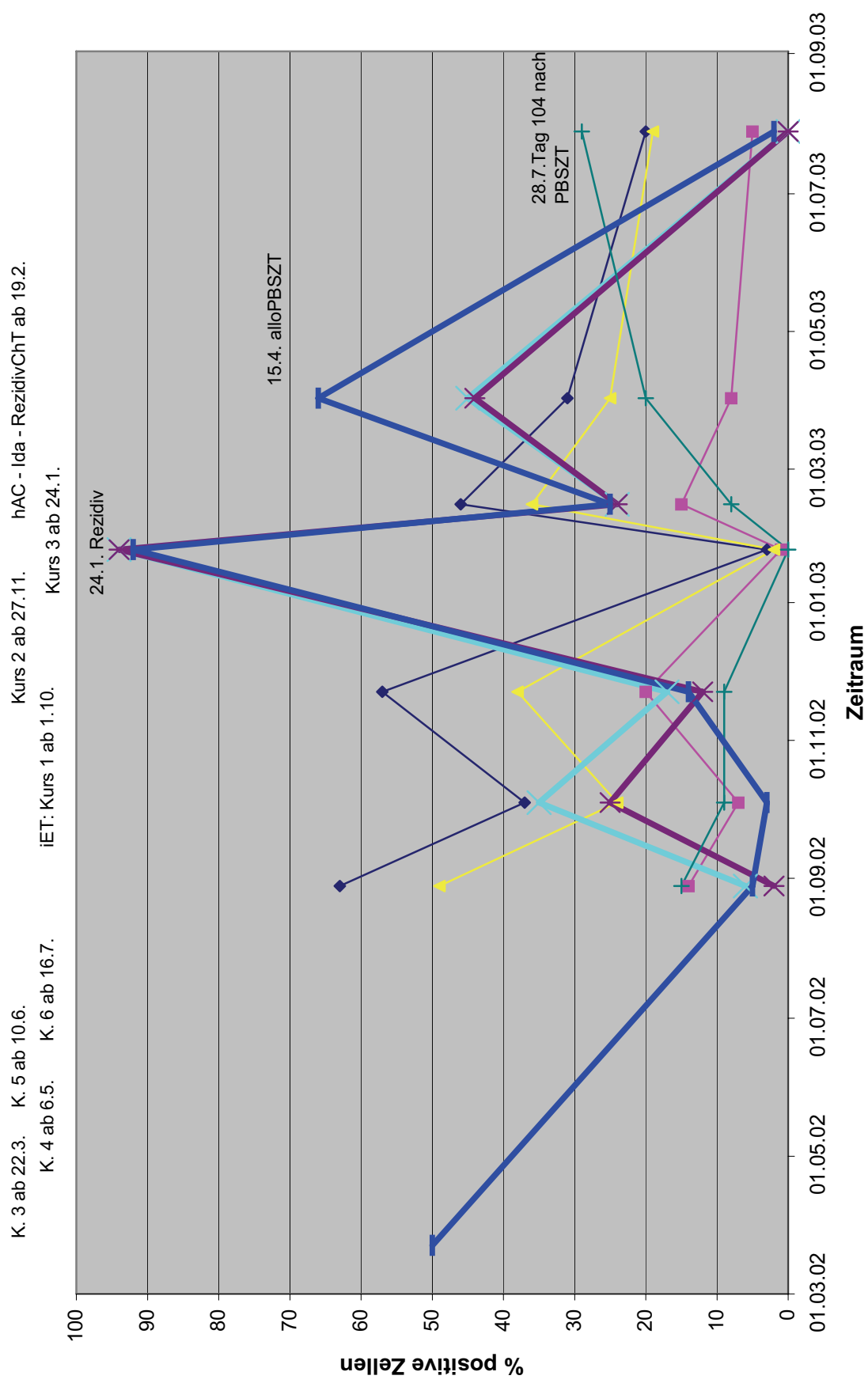
ab 03/03 intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll

Zytologie bei Erstdiagnose

13.06.2001

Z: KM subtotal von blastären Zellen und eingestreuten Lymphozyten infiltriert, nur vereinzelt Ausreifungsstufen

Patient 3, weiblich, 19 Jahre, c-ALL, bcr-abl+



Zytologie, Blasten :	22.03.02	28.08.02	15.10.02	29.11.02	24.01.03	02.04.03
	9%	5%	< 5%	6.8%	64%, Rezidiv	30%

Therapieverlauf von Patient 3, weiblich, geb. 10.04.1978, Alter bei ED 19 Jahre

Bei der Patientin wurde 8/2001 die Erstdiagnose einer bcr-abl-positiven c-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

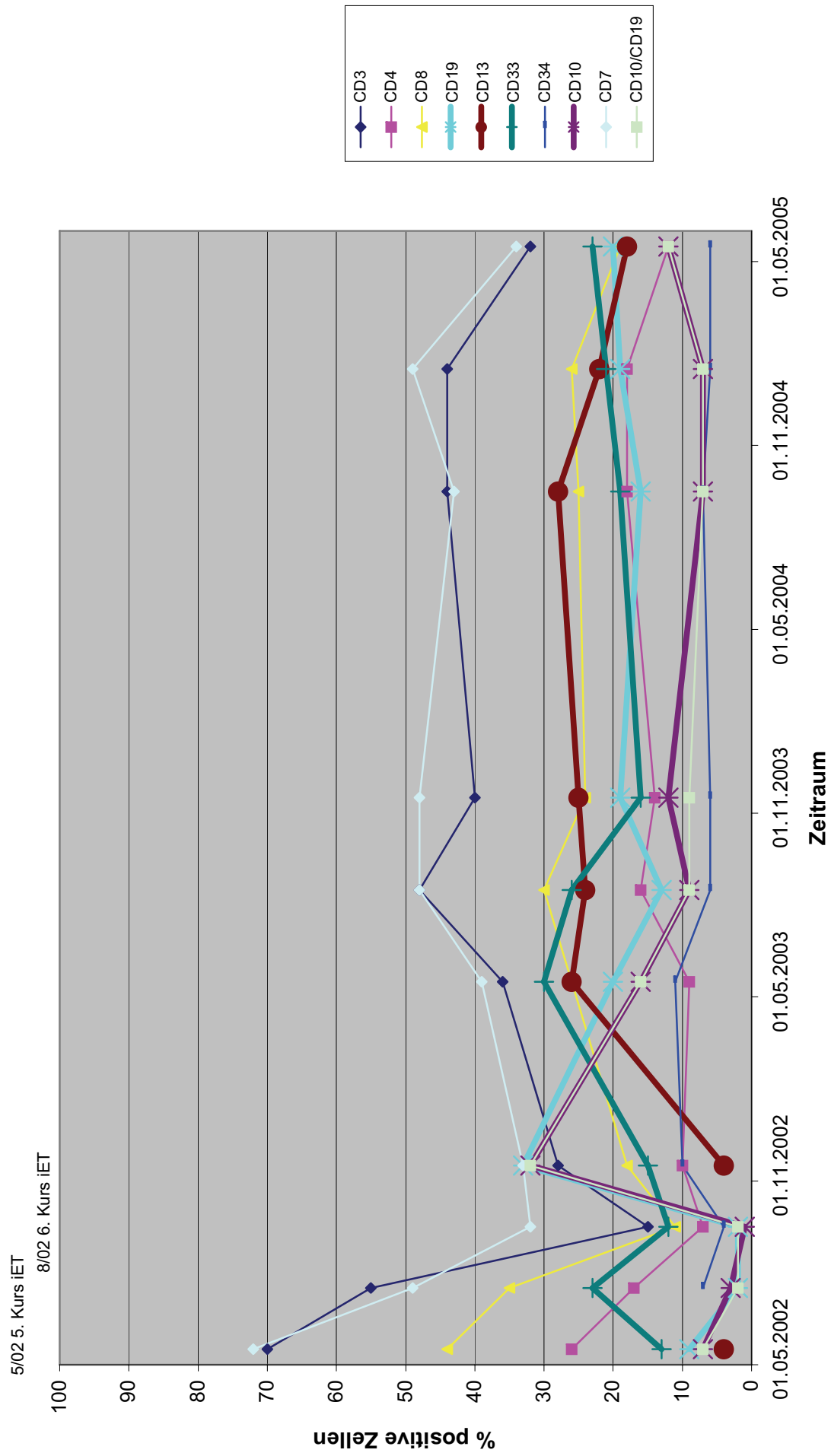
ab 23.08.2001 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2, Reinduktion 1,
Reinduktion 2
histologisch komplette Remission nach Induktion 1
ab 03/2002 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll, intermittierend
zwischen den Konsolidierungen 3 - 6
ab 10/2002 intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll bis einschließlich 3. Kurs
24.01.2003 Diagnosestellung des Rezidivs der ALL mit 64% Blasten in der
Beckenkammfunktion
Durchführung des ALL-Rezidivprotokolls IDA/Ara-C
ab 04/2003 Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna
15.04.2003 allogene PBSZT

Die Patientin entwickelte nach der Transplantation eine schwere GvHD des Darmes (°III) und der Haut (°IV) mit hohem Fieber und septischem Verlauf. Sie verstarb am 10.08.2003.

Der zytologische Befund zum Zeitpunkt der Erstdiagnose war nicht eruierbar.

.

Patient 4, männlich, 18 Jahre, c-ALL



Zytologie,	12/99	16.05.02	31.07.02	01.11.2002	01.11.2003	01.05.2003	01.11.2003	01.05.2004	01.11.2004	14.09.04	11.01.05
Blasten :	> 90%	5%	< 5%	< 5%	< 5%	6%	< 5%	5%	< 5%	< 5%	5%

Therapieverlauf von Patient 4, männlich, geb. 12.08.1981, Alter bei ED 18 Jahre

Bei dem Patienten wurde 12/1999 die Erstdiagnose einer c-ALL mit meningeosis leucaemica und Lymphom im vorderen Mediastinum gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 20.12.1999	3 x intrathekale Gabe von 15 mg MTX, 40 mg Ara-C und 4 mg Dexamethason
ab 21.12.1999	Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2, Reinduktion 1, Reinduktion 2
03.07.-05.07.2000	Unterbrechung wegen Panzytopenie
ab 08/00	Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll, intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 - 6
ab 07/01	intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll

Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

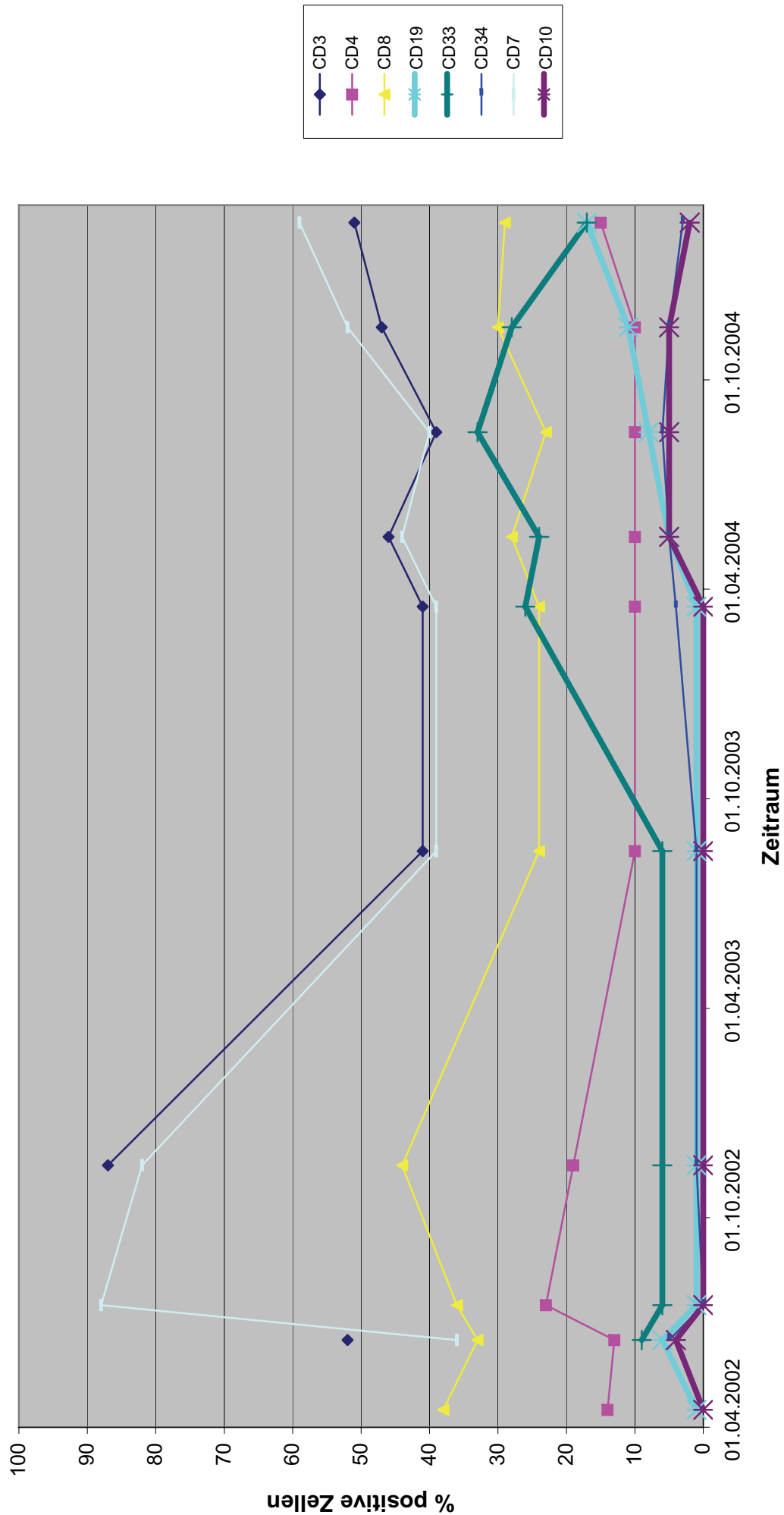
20.12.1999

Z: stark hyperzelluläres Mark mit subtotaler Infiltration durch Blasten mit lymphoider Morphologie, Blasten im Durchschnitt 92%; Befund wird als T-ALL gedeutet

H: diffuse Infiltration durch lymphoide Zellelemente im Sinne eines kleinzelligen malignen Lymphoms; weitere Einordnung nicht möglich

Patient 5, männlich, 22 Jahre, c-ALL

K. 6 ab 29.4. 2. Kurs ab 29.10. 4. Kurs ab 24.4. 6. Kurs ab 22.3.
 iET: 1. Kurs ab 18.7. 3. Kurs ab 9.4. 5. Kurs ab 12.9.



Zytologie, 12/00	26.04.02	19.06.02	01.04.2003	01.10.2003	01.04.2004	01.10.2004	09.11.04
Blasten : > 90%	9%	5,6%	< 5%	10%	< 5%	5,6%	< 5%
							5%

Therapieverlauf von Patient 5, männlich, geb. 24.11.1978, Alter bei ED 22 Jahre

Bei dem Patienten wurde 12/2000 die Erstdiagnose einer c-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

15.12.-17.12.2000 Vorphase

ab 18.12.2000 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2,
Reinduktion 1, Reinduktion 2

ab 10/01 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll
intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 - 6

ab 07/02 intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll

Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

12.12.2000

Z: normozelluläres Mark mit annähernd vollständiger Durchsetzung durch lymphoblastische Zellen mit FAB L3-Morphologie; in Synopsis von Zytologie, Zytochemie und FACS handelt es sich um eine c-ALL

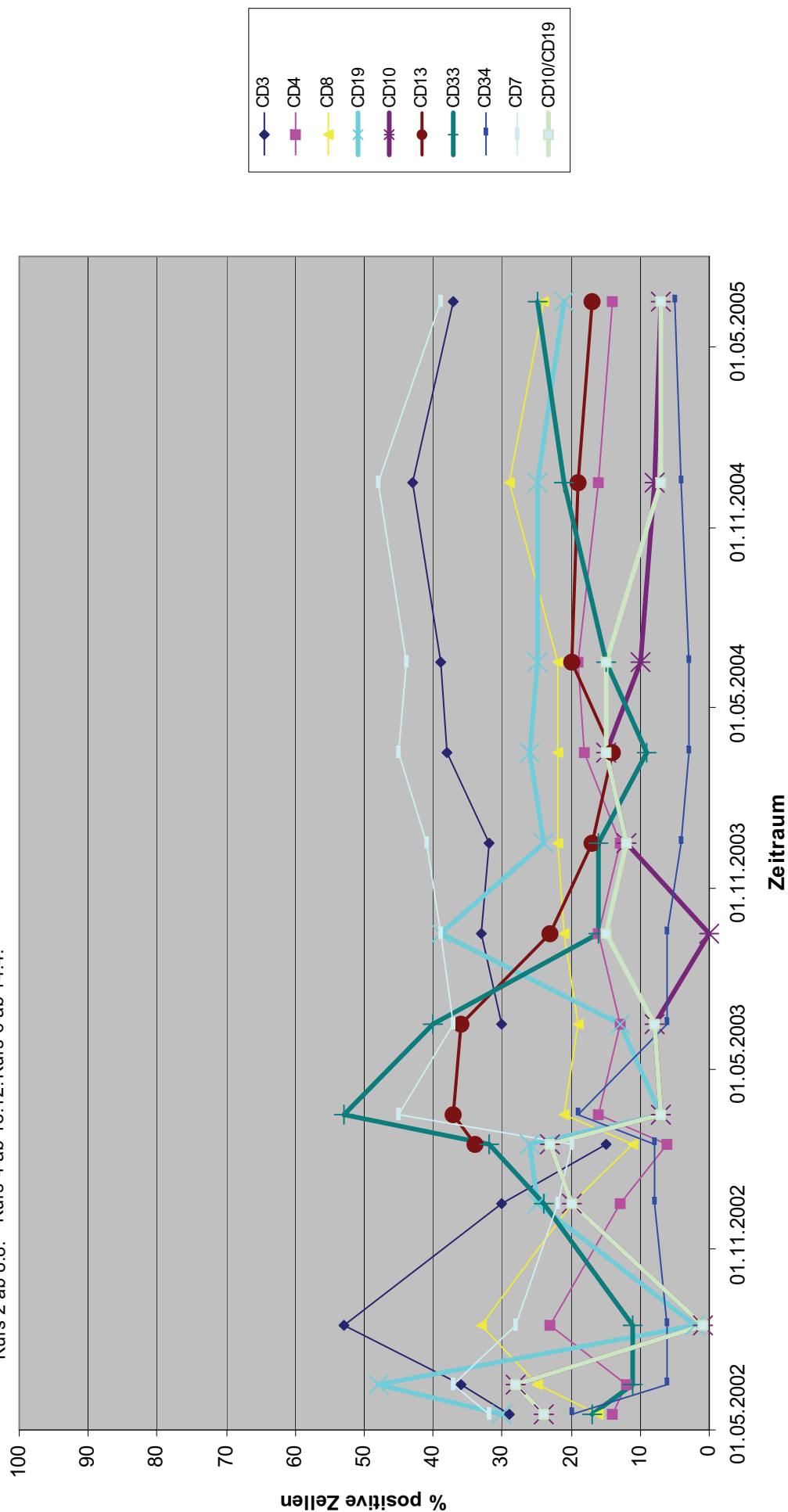
H: KM mit deutlich erhöhter Zelldichte; dichte diffuse Infiltration durch Blasten mit mäßig hyperchromatischen Zellkernen, Esterase negativ

H, 2.Bericht: positive Reaktion mit Antikörpern gegen TdT und CD20, damit mit klinischer Diagnose der c-ALL vereinbar

Patient 6, männlich, 22 Jahre, c-ALL

iET: Kurs 1 ab 24.6. Kurs 3 ab 15.10. Kurs 5 ab 11.2.

Kurs 2 ab 8.8. Kurs 4 ab 18.12. Kurs 6 ab 14.4.



Zytologie, Blasten :	05.03.01	13.05.02	24.06.02	01.11.2003	20.08.02	18.12.02	18.03.03	09.09.03	29.06.04	14.12.04
	> 90%	9%	6,2%	< 5%	< 5%	5,6%	8%	< 5%	< 5%	< 5%

Therapieverlauf von Patient 6, männlich, geb. 08.08.1978, Alter bei ED 22 Jahre

Bei dem Patienten wurde 3/2001 die Erstdiagnose einer T-ALL gestellt, welche im weiteren Verlauf als c-ALL mit mediastinalem Tumor eingestuft wurde.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 07.03.2001 Vorphase ohne Cyclophosphamid
ab 10.03.2001 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2,
 Reinduktion 1, Reinduktion 2, Konsolidierung 3
ab 01/2002 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll
 intermittierend zwischen den Konsolidierungen 4 - 6
ab 06/2002 intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll

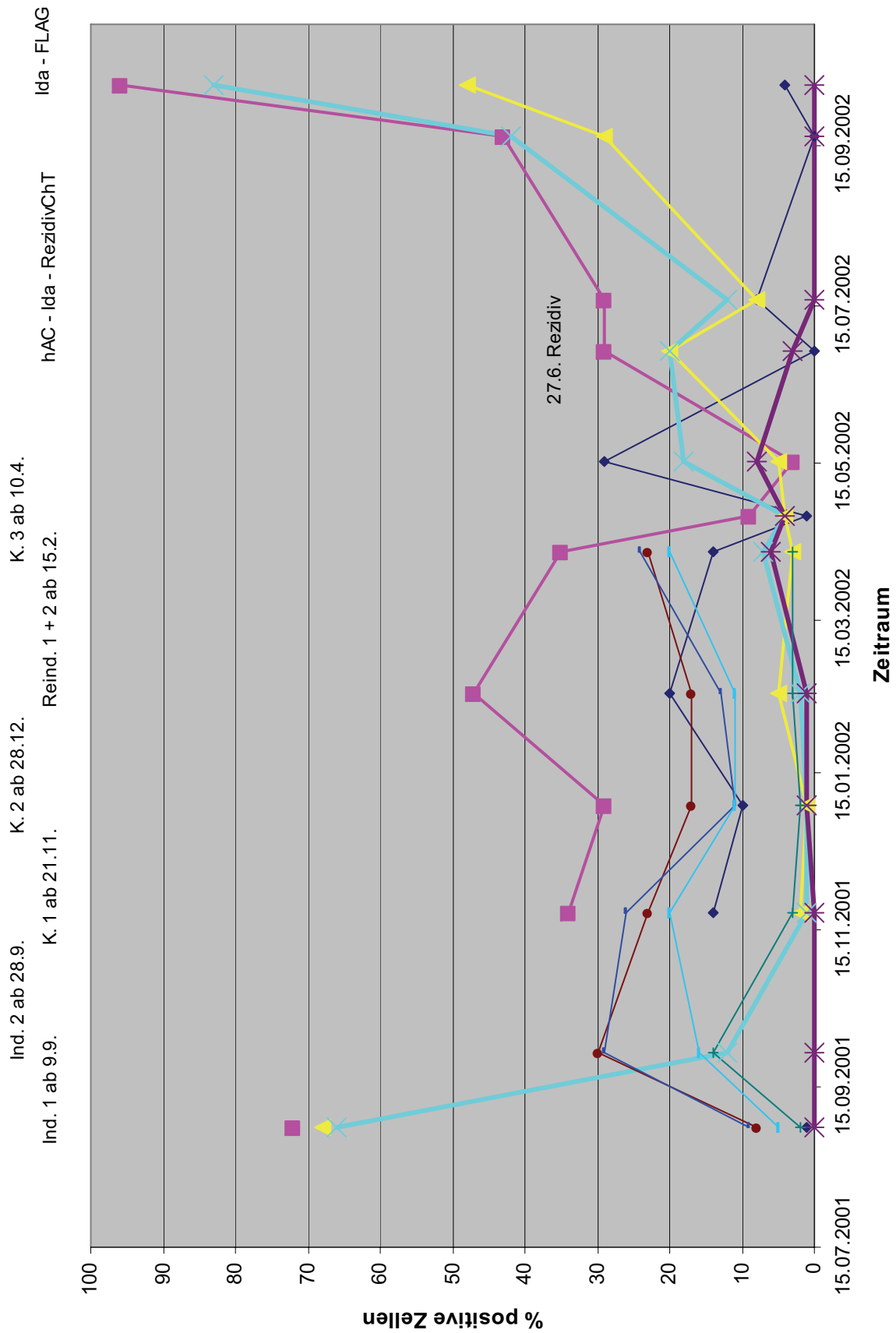
Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

05.03.2001

Z: in Zusammenschau von Zytologie, Zytochemie und Immunzytologie handelt es sich bei den vorliegenden Präparaten um eine T-ALL; DD: leukämischer Verlauf eines Lymphoms

H: KM mit dem Bild einer unreifzelligen Leukämie, wobei die Befunde auf eine lymphatische Leukämie hindeuten; eine sichere Liniendifferenzierung ist allerdings anhand des vorliegenden Materials nicht möglich

Patient 7, weiblich, 33 Jahre, c-ALL



Therapieverlauf von Patient 7, weiblich, geb. 05.11.1967, Alter bei ED 33 Jahre

Bei der Patientin wurde 8/2001 die Erstdiagnose einer c-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 05.09.2001	Vorphase ohne Cyclophosphamid
ab 09.09.2001	Induktion 1 ohne MTX an Tag 7, 13, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2, Reinduktion 1, Reinduktion 2
ab 03/2002	Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll
ab 10.04.2002	Konsolidierung 3 ohne Asparaginase wegen Gerinnungsstörungen
27.06.2002	Rezidiv mit Linienswitch Therapie mit Ara-C, Teniposid, Idarubicin Therapieevaluation: Blastenpersistenz
25.09.-27.09.2002	dosisreduziertes Ida-FLAG (60%, ohne G-CSF) Therapieevaluation: Blastenpersistenz
07.10.-11.10.2002	Etoposid- und Ara-C - Dauerinfusion
21.10.2002	Gabe von CD33-Antikörpern (Mylotarg)

Die Patientin verstarb am 24.10.2002 im Rahmen einer respiratorischen Globalinsuffizienz.

Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

30.08.2001

Z: akute lymphatische Leukämie mit subtotaler KM-Infiltration; Immunzytologie spricht für das Vorliegen einer pro-B-ALL, zentrale Diagnostik (FU Berlin) jedoch für c-ALL

H: bei eingeschränkt beurteilbarem Beckenkammzylinder ergibt sich der Verdacht auf eine maligne hämatologische Systemerkrankung

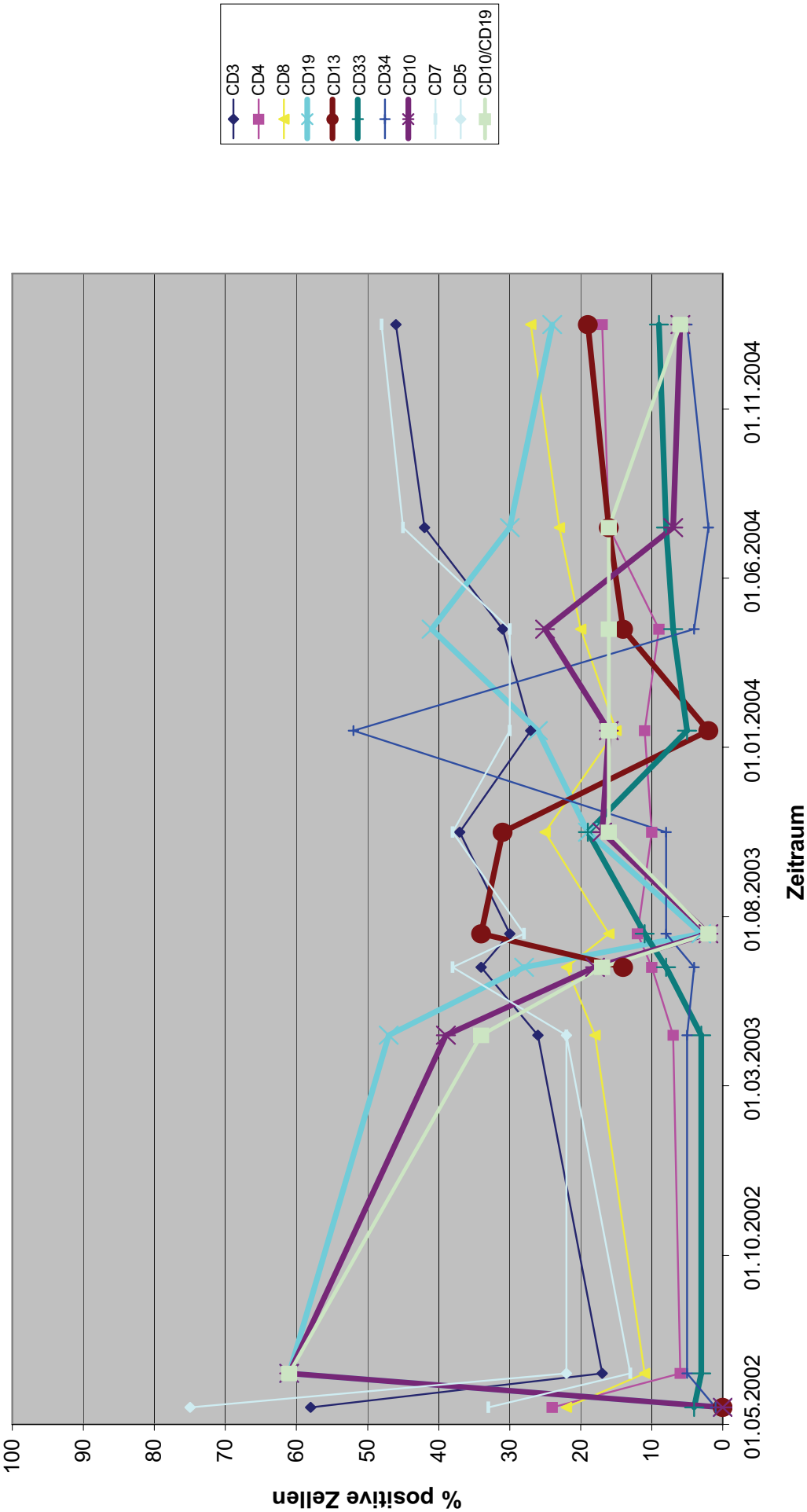
H, 2.Bericht: immunhistochemische Untersuchung spricht für das Vorliegen einer akuten Lymphoblastenleukämie vom Common-Subtyp.

Patient 8, männlich, 17 Jahre, c-ALL

K. 6 ab 1.8.

K. 5 ab 6.5.

----- 10/02 - 8/03 iET -----



Zytologie, Blasten :	02.05.01	06.05.02	12.06.02	25.04.03	01.08.2003	25.06.03	29.07.03	07.10.03	13.01.04	13.04.04	13.07.04	18.01.05
	> 40%	8%	12%	< 5%	< 5%	< 5%	7%	7,5%	7,5%	< 5%	< 5%	5%

Therapieverlauf von Patient 8, männlich, geb. 27.06.1983, Alter bei ED 17 Jahre

Bei dem Patienten erfolgte 5/2001 die Erstdiagnose einer c-ALL.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 01.06.2001 Vorphase

ab 04.06.2001 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2,
Reinduktion 1, Reinduktion 2

ab 01/2002 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll
intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 - 6

ab 10/2002 intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll

Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

28.02.2001

Z: beim vorliegenden Befund handelt es sich am ehesten um ein reaktiv verändertes KM, für ein MDS ist der Patient zu jung; Baustoffmangel aber auch Autoimmunerkrankungen könnten bei vorliegenden Veränderungen eine Rolle spielen; für akute Leukämie gibt es keinen Hinweis

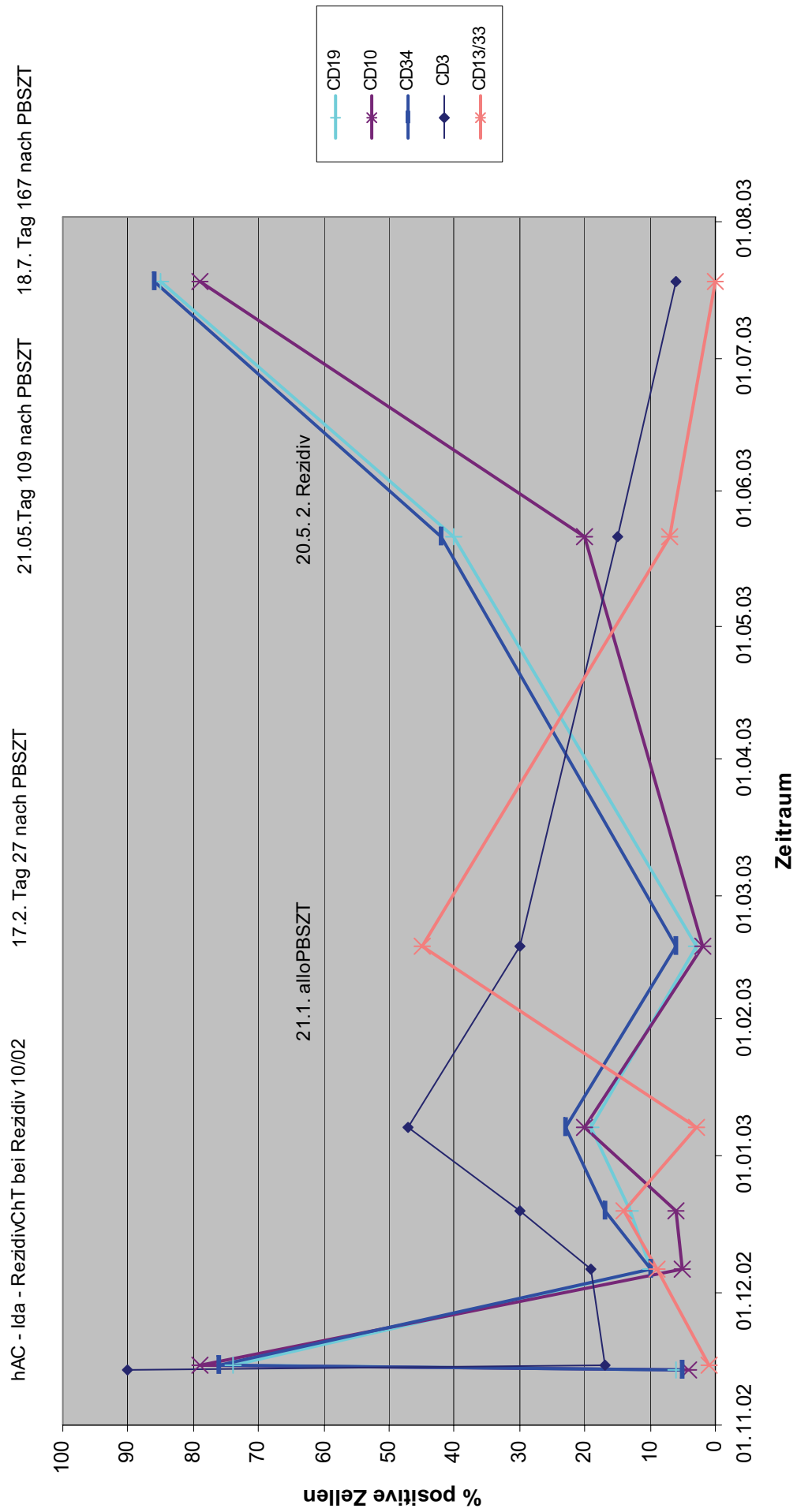
H: KM mit ca. 40% Blasten; morphologisches Korrelat einer akuten Blastenleukämie; immunhistochemisch entspricht sie einer AML, Typ M1-M2 ist anzunehmen

01.06.2001 (externer Befund)

H: es ist eine ALL vom B-Zell-Typ zu diagnostizieren: CD 79+, CD 10+, TdT +, partiell CD 20 + und IgM

.

Patient 9, männlich, 29 Jahre, c-ALL



Zytologie, Blasten	07.06.00	13.11.02	06.12.02	19.12.02	07.01.03	17.02.03	30.05.03	18.07.03
	80%	71%	Aplasie	7%	< 5%	< 5%	> 90%	> 90%

Therapieverlauf von Patient 9, männlich, geb. 30.05.1970, Alter bei ED 29 Jahre

Bei dem Patienten wurde 6/2000 die Erstdiagnose einer c-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99 (in auswärtiger Klinik)

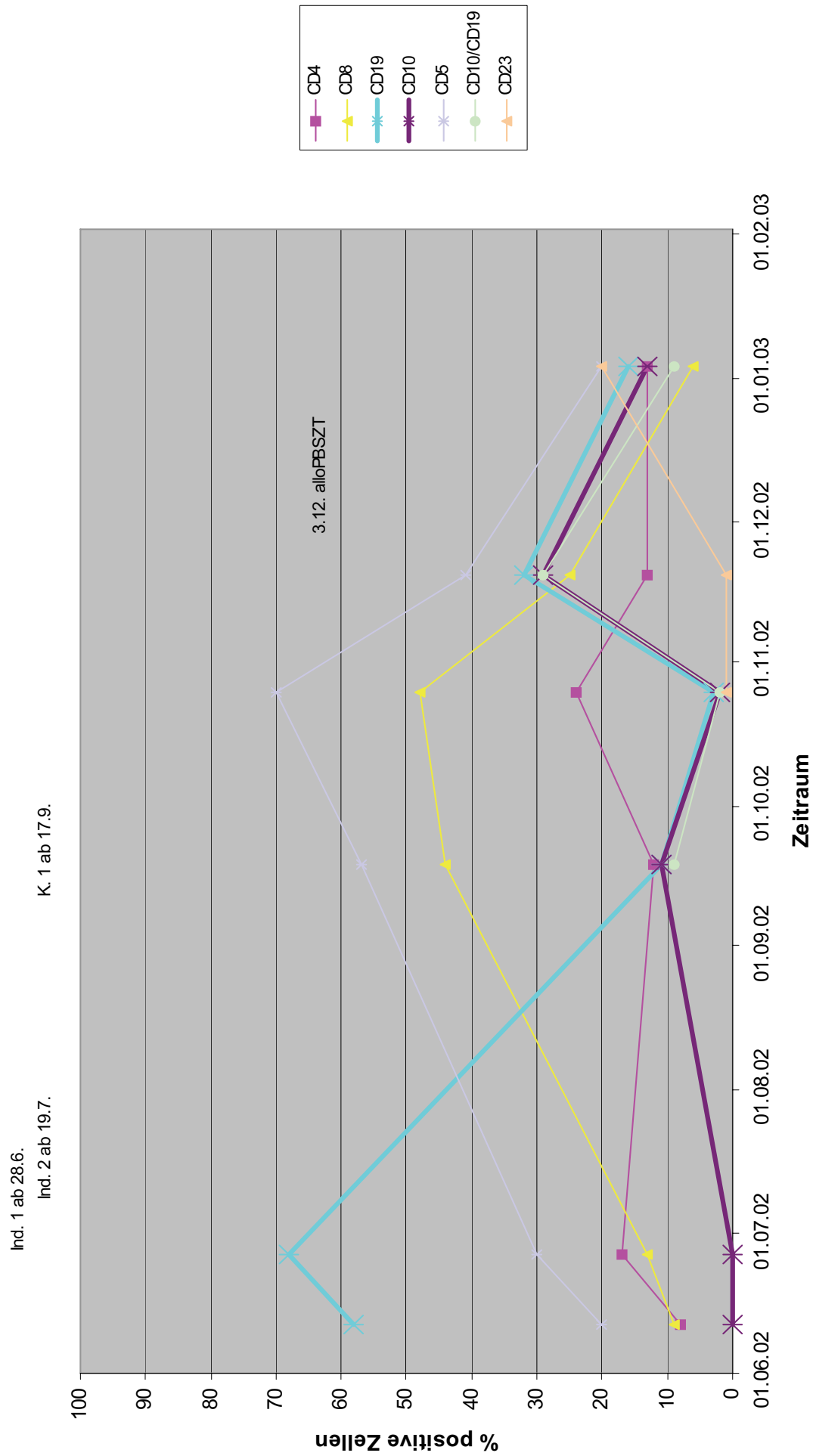
ab 06/00	Induktion 1, Induktion 2
Juli – Dezember 2001	intensivierte Erhaltungstherapie, anschließend Standarderhaltungstherapie (durchgehend 6-MP/MTX)
13.11.2002	1. Rezidiv der ALL Durchführung der ALL-Rezidivtherapie IDA/Ara-C
21.01.2003	allogene PBSZT nach Konditionierung mit TBI und Cyclophosphamid
20.05.2003	2. Rezidiv der ALL Therapie mit Ara-C und Thioguanin
19.07.-21.07.2003	palliative Chemotherapie mit Ifosfamid, Ara-C, Etophos und Prednisolon (nach Frührezidiv-ALL-Protokoll 1998 ohne MTX)

Zytologie bei Erstdiagnose

07.06.2000

Z: Dominanz einer Population kleinerer blastärer Zellen und Lymphozyten, etwa 80% der Gesamtzellmenge ausmachend, geringe Resthämatopoese; immunphänotypisch CD34 +, CD10/CD19 +, sIgM und cyIgM -; in Zusammenschau der Befunde ergibt sich die Diagnose einer c-ALL mit Stammzellmarkern

Patient 10, weiblich, 35 Jahre, pro-B-ALL



Zytologie, Blasten :	11.06.02	25.06.02	18.09.02	25.10.02	19.11.02	03.01.03
	90%	95%	< 5%	11%	6,2%	< 5%

Therapieverlauf von Patient 10, weiblich, geb. 16.07.1966, Alter bei ED 35 Jahre

Bei der Patientin wurde 6/2002 die Erstdiagnose einer pro-B-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Hochrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 28.06.2002	Induktion 1, Induktion 2
ab 17.09.2002	Konsolidierung 1
ab 26.11.2002	Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna
03.12.2002	allogene PBSZT

Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

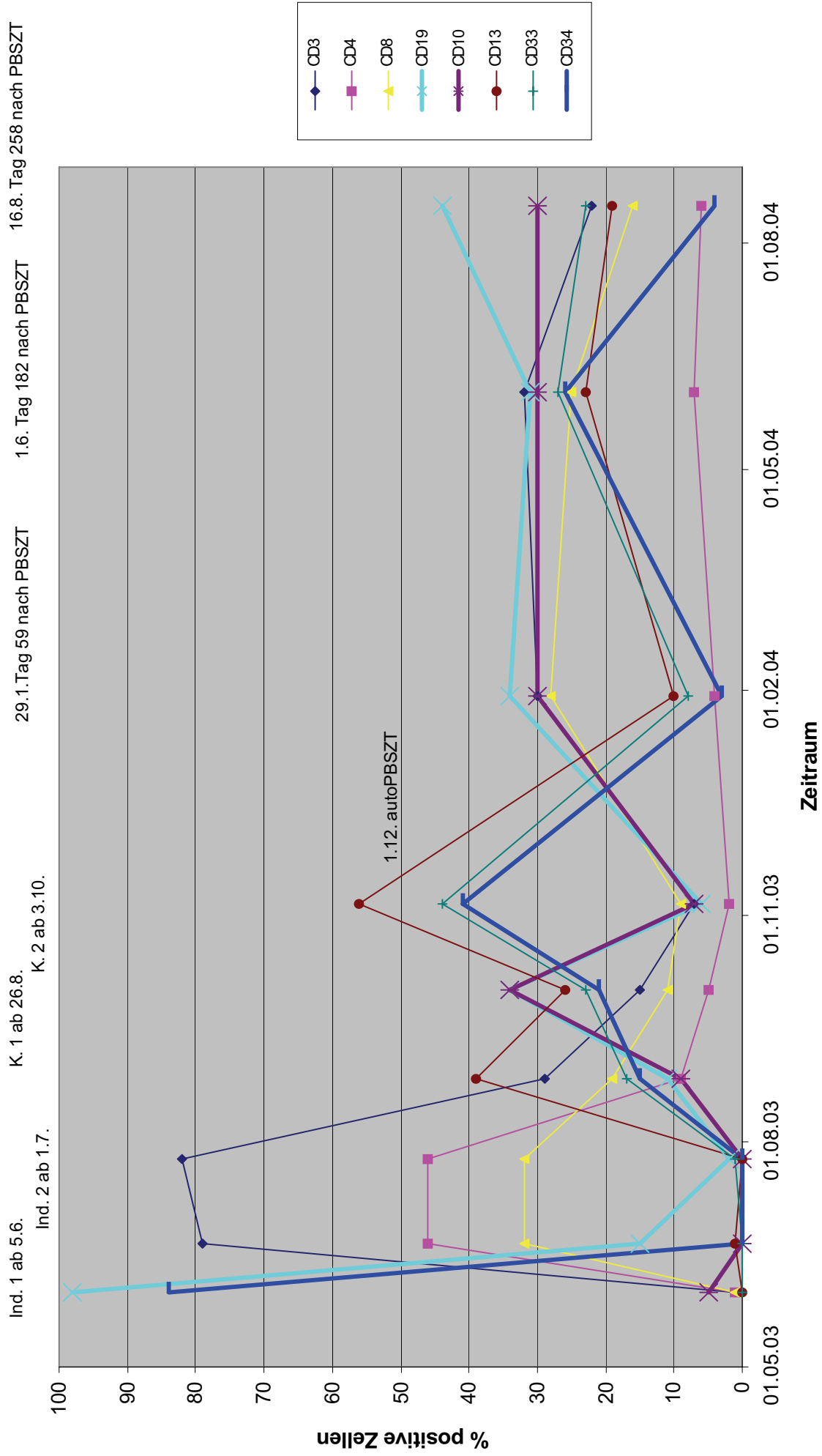
25.06.2002

Z: Punctio sicca, das Markblut enthält neben reifen Lymphozyten auch etliche Blasten unklarer Dignität

H: massive Infiltration des KM, mehr als 95% der markhaltigen Räume werden von Infiltraten eingenommen

.

Patient 11, weiblich, 18 Jahre, pro-B-ALL



Zytologie, Blasten :	02.06.03	30.06.03	26.08.03	01.10.03	01.02.04	05.11.03	02.06.04	16.08.04
	> 90%	15%	10%	12%	< 5%	< 5%	7%	< 5%

Therapieverlauf von Patient 11, weiblich, geb. 20.05.1985, Alter bei ED 18 Jahre

Bei der Patientin wurde 6/2003 die Erstdiagnose einer pro-B-ALL gestellt.

Therapie nach GMALL-Studienprotokoll 07/03 , Hochrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 5.6.2003 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1
Therapieevaluation: fragliches Rezidiv, eine Untersuchung des
Leukapherisats ergab aber keinen Hinweis auf eine Kontamination
mit Blasten
ab 3.10.2003 Konsolidierung nach HR-Arm (Ida - FLAG) bei geplanter autologer PBSZT
ab 24.11.2003 Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna
01.12.2003 autologe PBSZT

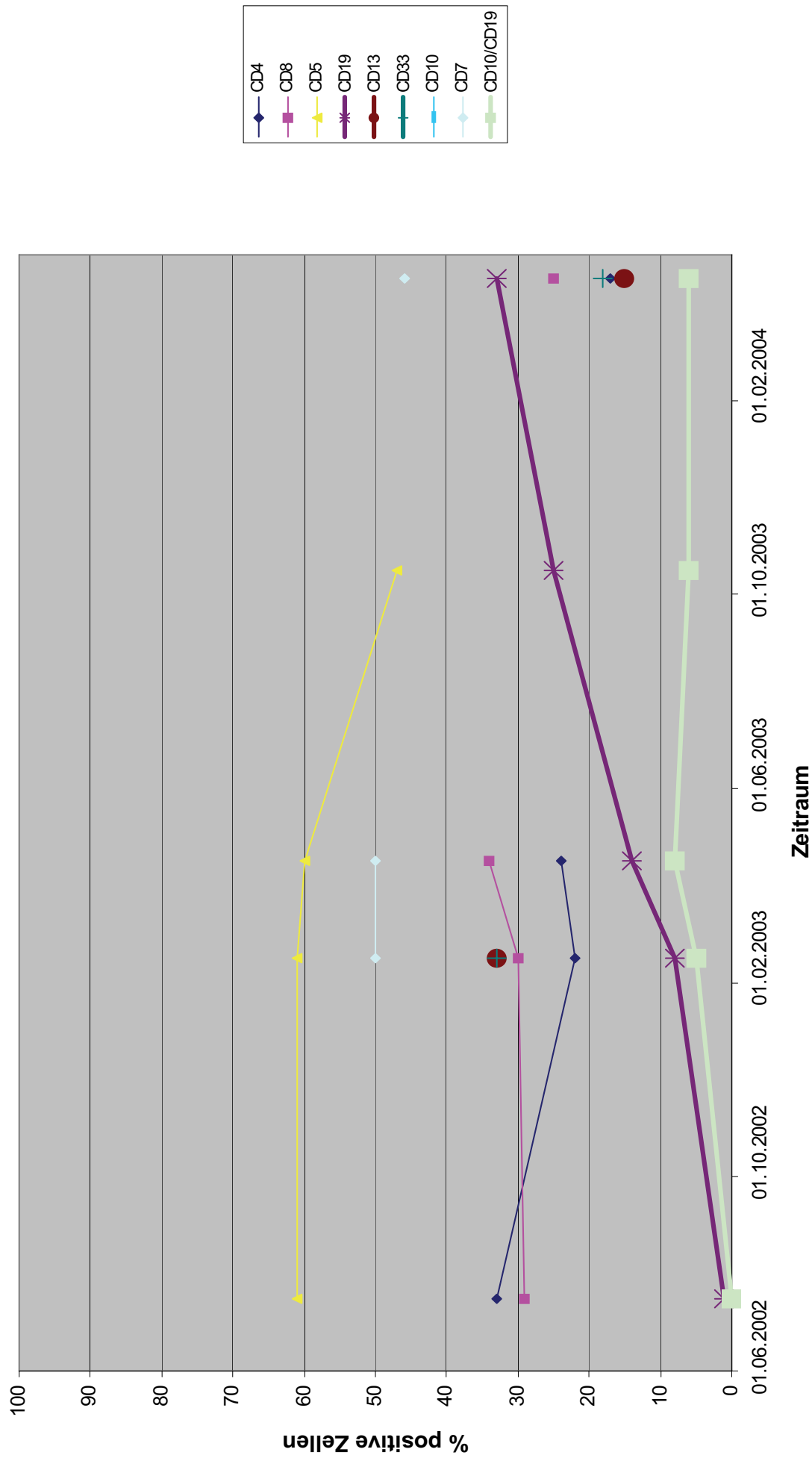
Histologie bei Erstdiagnose

02.06.2003

Dichte diffuse Infiltration des KM durch blastäre Infiltrate einer B-ALL

Patient 12, weiblich, 50 Jahre, pro-B-ALL

----- 1/01 - 2/03 ET mit 6-MP und MTX-----



Zytologie, Blasen :	10/99	04.07.02	18.02.03	20.04.04
	> 90%	< 5%	9%	8,25%

Therapieverlauf von Patient 12, weiblich, geb.25.01.1949, Alter bei ED 50 Jahre

Bei der Patientin wurde 10/1999 die Erstdiagnose einer pro-B-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Hochrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 10.12.1999 Induktion 1; Induktion 2; Konsolidierung 1
ab 17.05.2000 Konsolidierung 2 nach IFO-ARAC
anschließend weitere Therapie nach dem Standardrisiko-Arm, da kein
Stammzellspender vorhanden
17.07.2000 Reinduktion 1, Reinduktion 2
ab 08/2000 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll
intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 - 6

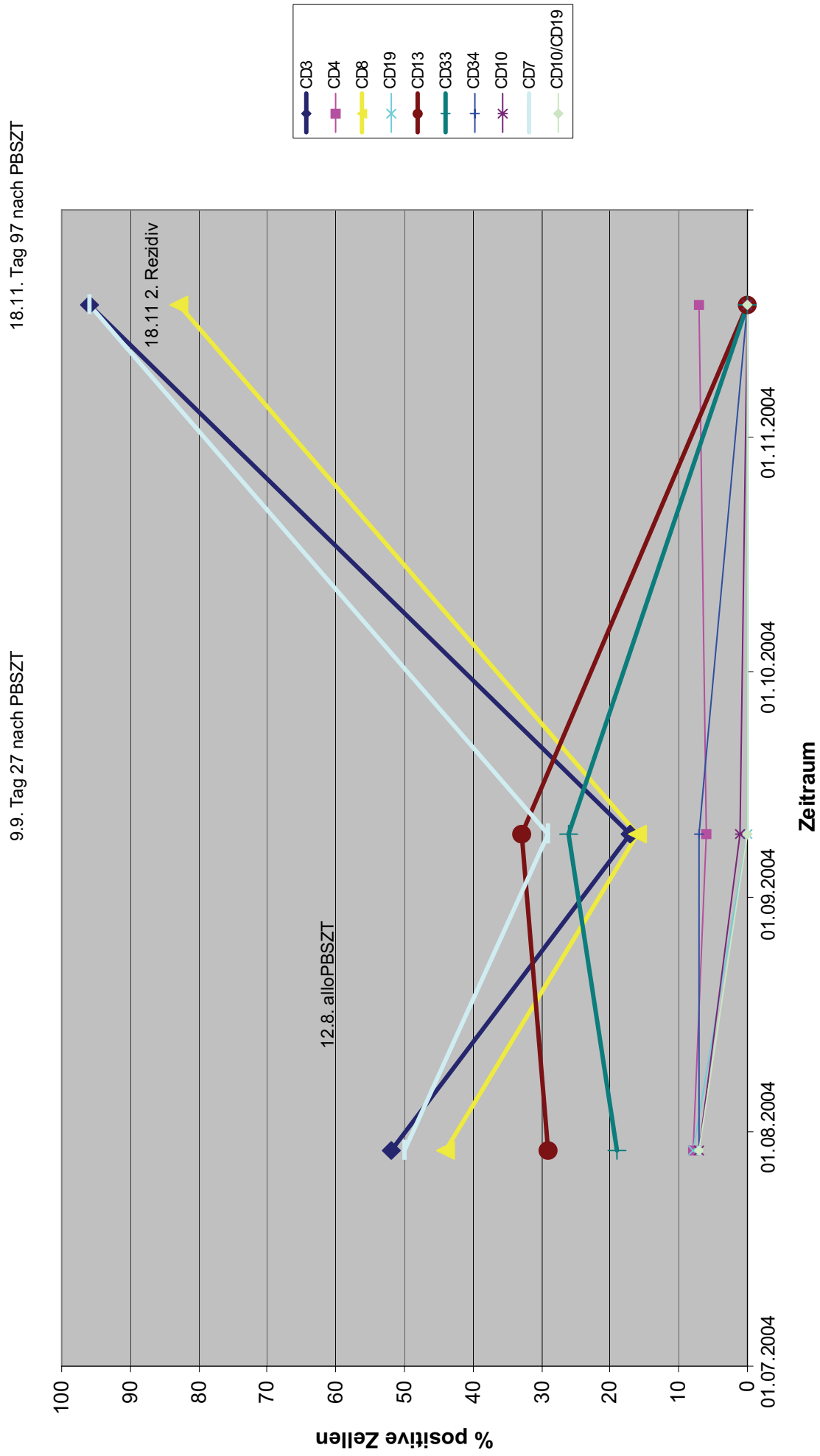
Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

13.10.1999

Z: hyperzelluläres KM mit subtotaler Infiltration durch zumeist kleinere blastäre Zellen -
Stammzellmorphologie, 90% der Gesamtzellmenge ausmachend; CD34: 98%, CD19: 98%;
somit prä-prä-ALL

H: Verdacht der akuten Leukämie bestätigt, morphologische Befunde korrelieren zu einer
AML

Patient 13, männlich, 17 Jahre, pro-B-ALL



Zytologie, Blasten :	29.01.01 > 90%	29.03.04 60-65%	29.07.04 < 5%	10.09.04 5%	09.11.04 > 90%
-------------------------	-------------------	--------------------	------------------	----------------	-------------------

Therapieverlauf von Patient 13, männlich, geb. 20.03.1984, Alter bei ED 17 Jahre

Bei dem Patienten wurde 10/2001 die Erstdiagnose einer pro-B-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99 (Therapiedurchführung in einer externen Klinik, daher keine genauen Angaben zum Therapieverlauf möglich)

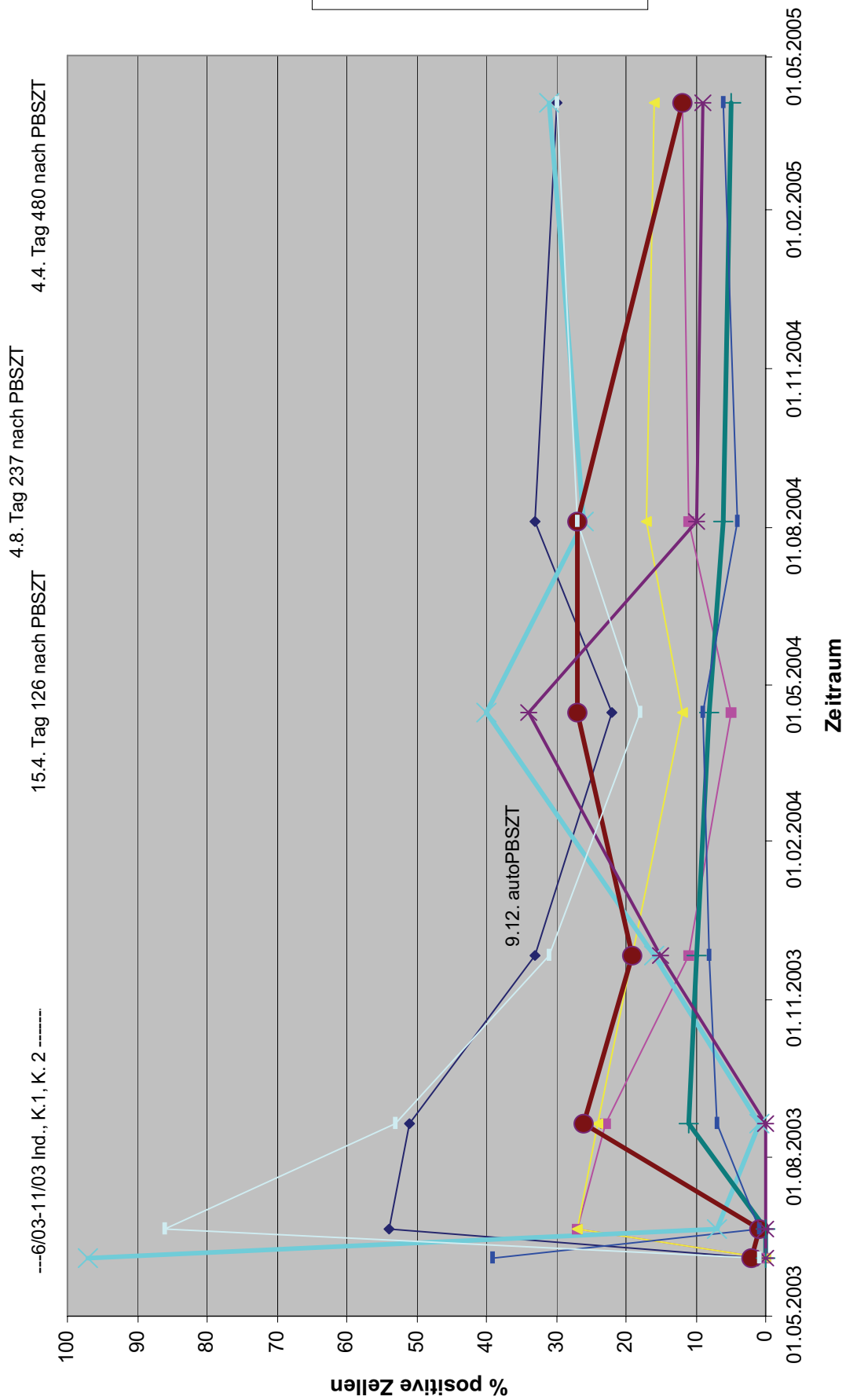
03/2004	1. Rezidiv mit 65%iger KM-Infiltration und Manifestation im Bereich des rechten Hodens Rezidivchemotherapie in externer Klinik
ab 26.03.2004	Cyclophosphamid, Ifosfamid, Metothrexat
ab 26.04.2004	Vindesin, Daunoblastin, Cyclophosphamid, Ara-C
03.06.-23.06.2004	perkutane Strahlentherapie des rechten Hodens mit einer Herddosis von 24 Gy
ab 08/2004	Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna
12.08.2004	allogene PBSZT
11/2004	2. Rezidiv Der Patient wurde daraufhin auf die Palliativstation verlegt.

Zytologie bei Erstdiagnose

29.09.2001 (externer Befund)

Z: zytologisch muss der Verdacht auf eine ALL der Klassifikation L2 geäußert werden

Patient 14, männlich, 31 Jahre, pro-B-ALL



Zytologie, Blasten :	03.06.03	30.06.03	20.08.03	27.11.03	04.08.04
	> 90%	11%	10,5%	9,2%	< 5%

Therapieverlauf von Patient 14, männlich, geb. 20.04.1972, Alter bei ED 31 Jahre

Bei dem Patienten wurde 6/2003 die Erstdiagnose einer pro-B-ALL gestellt.

Therapie nach GMALL-Studienprotokoll 07/03, Hochrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

Induktion 1 nach GMALL-Studienprotokoll

Induktion 2 nach GMALL-Studienprotokoll

Konsolidierung 1 nach GMALL-Studienprotokoll

Konsolidierung 2 nach Ida/FLAG-Protokoll (GMALL-Studienprotokoll) bei geplanter autologer PBSZT (fehlender HLA-identischer Fremdspender)

ab 12/2003 Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna

09.12.2003 autologe PBSZT

Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

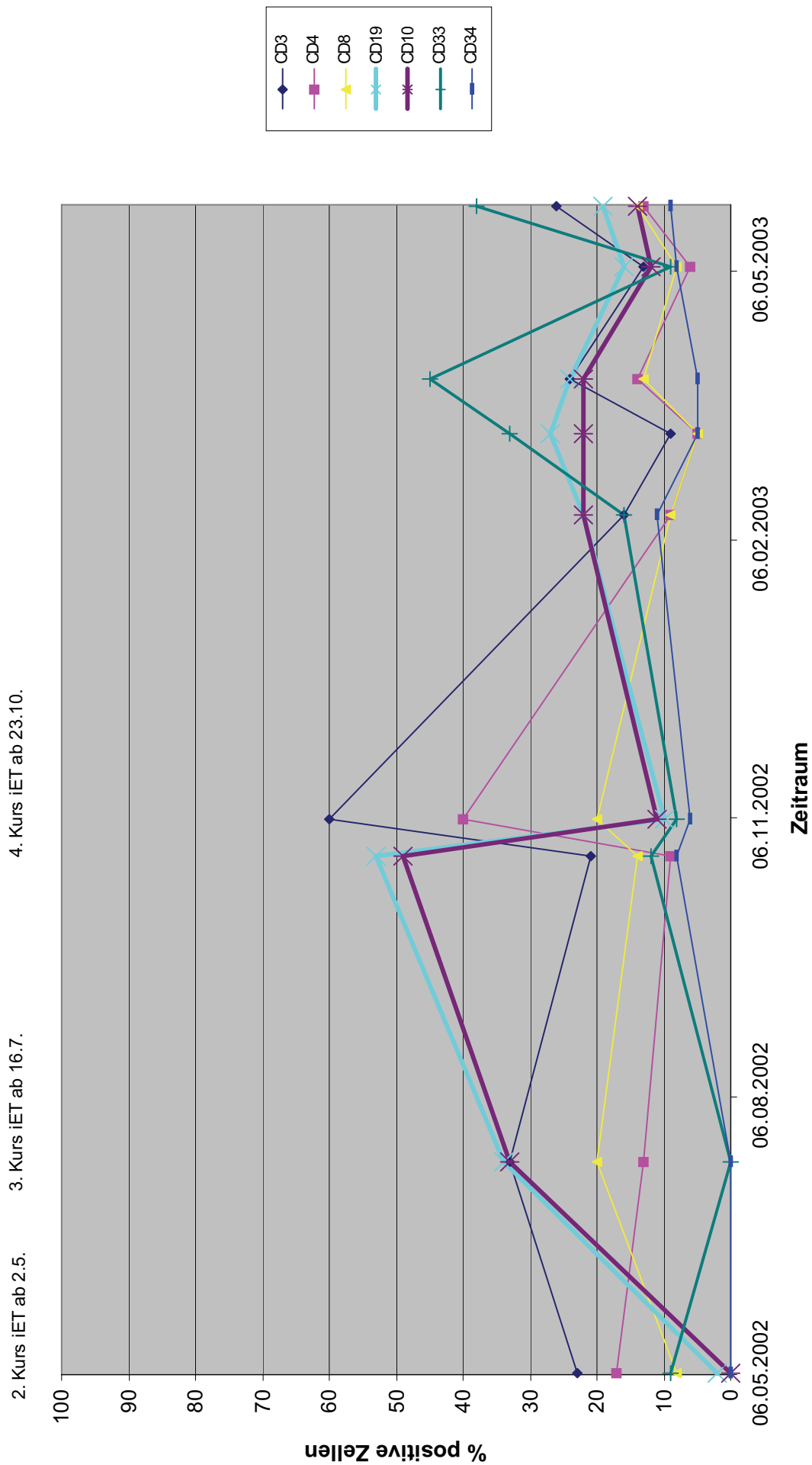
03.06.2003

Z: hyperzelluläres KM mit subtotaler Infiltration (> 90% der Gesamtzellmenge) durch kleine blastäre Zellen; die zytochemischen Marker stellen sich negativ dar; aus zytologischer Sicht ist somit nicht zu entscheiden, ob es sich um frühe Lymphoblasten oder um eine Stammzellleukämie handelt; Verweis auf Immunzytologie

H: Befund einer akuten Leukämie, am ehesten AML; im vorliegenden Material kein Anhalt für klinisch vermutete ALL

H, 2. Bericht: in Verbindung mit den klinischen Angaben und dem zytologischen Befund entsprechen die vorliegenden histopathologischen Befunde einer ALL

Patient 15, weiblich, 21 Jahre, prä-B-ALL



Zytologie, Blasten :	05/00	15.10.02	05.11.02	14.02.03	31.03.03
	> 90%	18%	"erhöht"	< 5%	6,8%

Therapieverlauf von Patient 15, weiblich, geb. 13.06.1978, Alter bei ED 21 Jahre

Bei der Patientin wurde 5/2000 die Erstdiagnose einer prä-B-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 06.05.2000	Vorphase
ab 09.05.2000	Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2, Reinduktion 1, Reinduktion 2 mit nur 75% Cyclophosphamid wegen langer Myelosuppression
ab 04/01	Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 - 6
ab 03/2002	intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll, einschließlich 4. Kurs
Seit 10/2002	keine weitere Therapie wegen anhaltender Thrombopenie
ab 06/2003	bei Verdacht auf 1. Rezidiv Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna
11.06.2003	allogene PBSZT

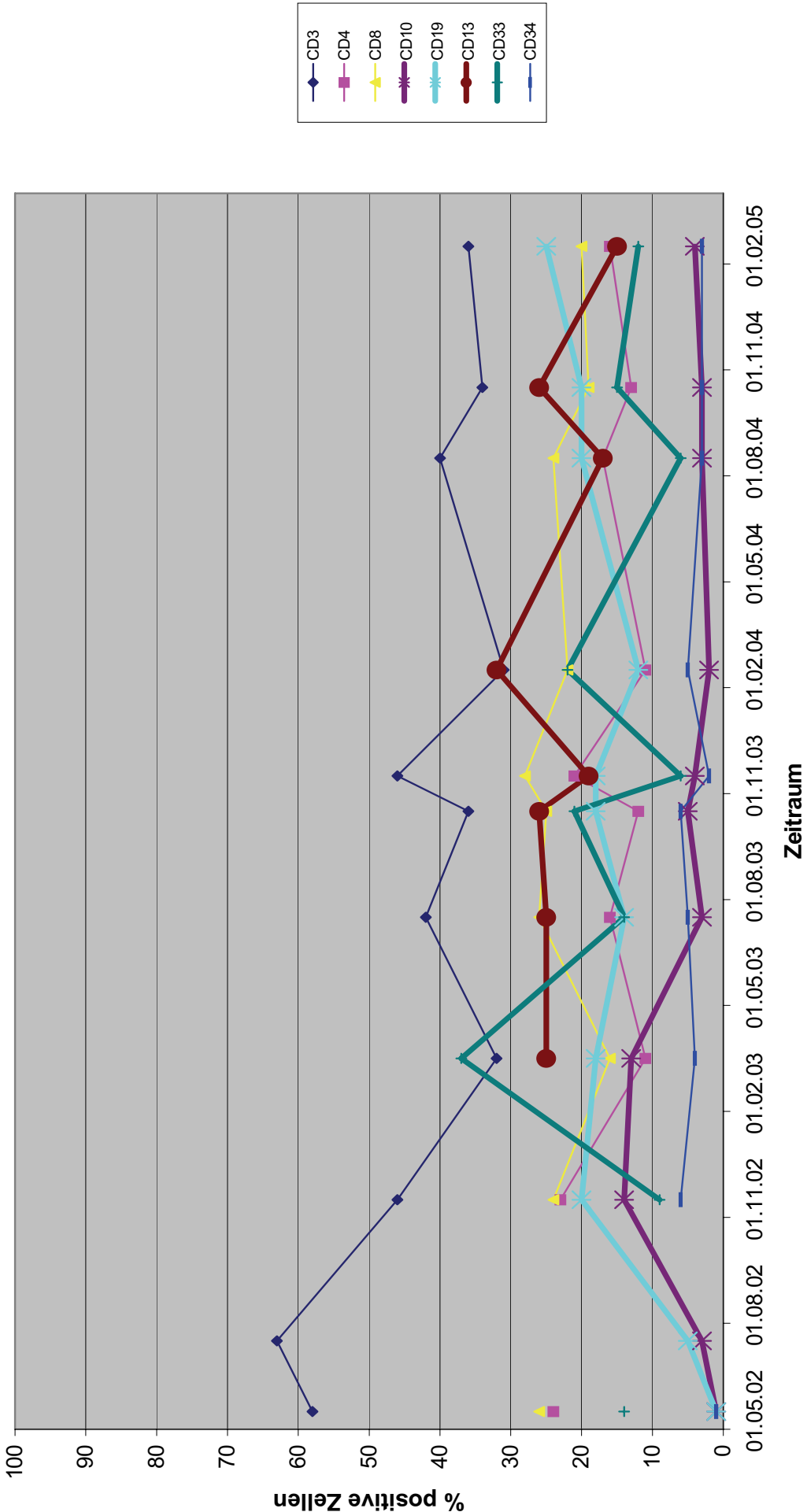
Histologie bei Erstdiagnose

05.05.2000

H: morphologisches Bild einer akuten Leukämie, zytologisch ALL; Leukämieinfiltrat macht
> 90% des gesamten Zellbestandes aus, immunhistochemisch B-ALL

Patient 16, männlich, 36 Jahre, prä-B-ALL

iET: 4. Kurs ab 23.5. 5. Kurs ab 23.7.
6. Kurs ab 2. 10.



Zytologie, Blasten :	15.06.00	27.05.02	25.07.02	12.11.02	01.07.03	03.02.04	09.08.04	05.10.04
	> 90%	7%,	< 5%	< 5%	< 5%	12%	7%	8%

Therapieverlauf von Patient 16, männlich, geb. 28.01.1964, Alter bei ED 36 Jahre

Bei dem Patienten wurde 6/2000 die Erstdiagnose einer prä-B-ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 16.06.2000 Vorphase

ab 19.06.2000 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2,
Reinduktion 1, Reinduktion 2

ab 01/2001 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll
intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 - 6

ab 11/2001 intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll

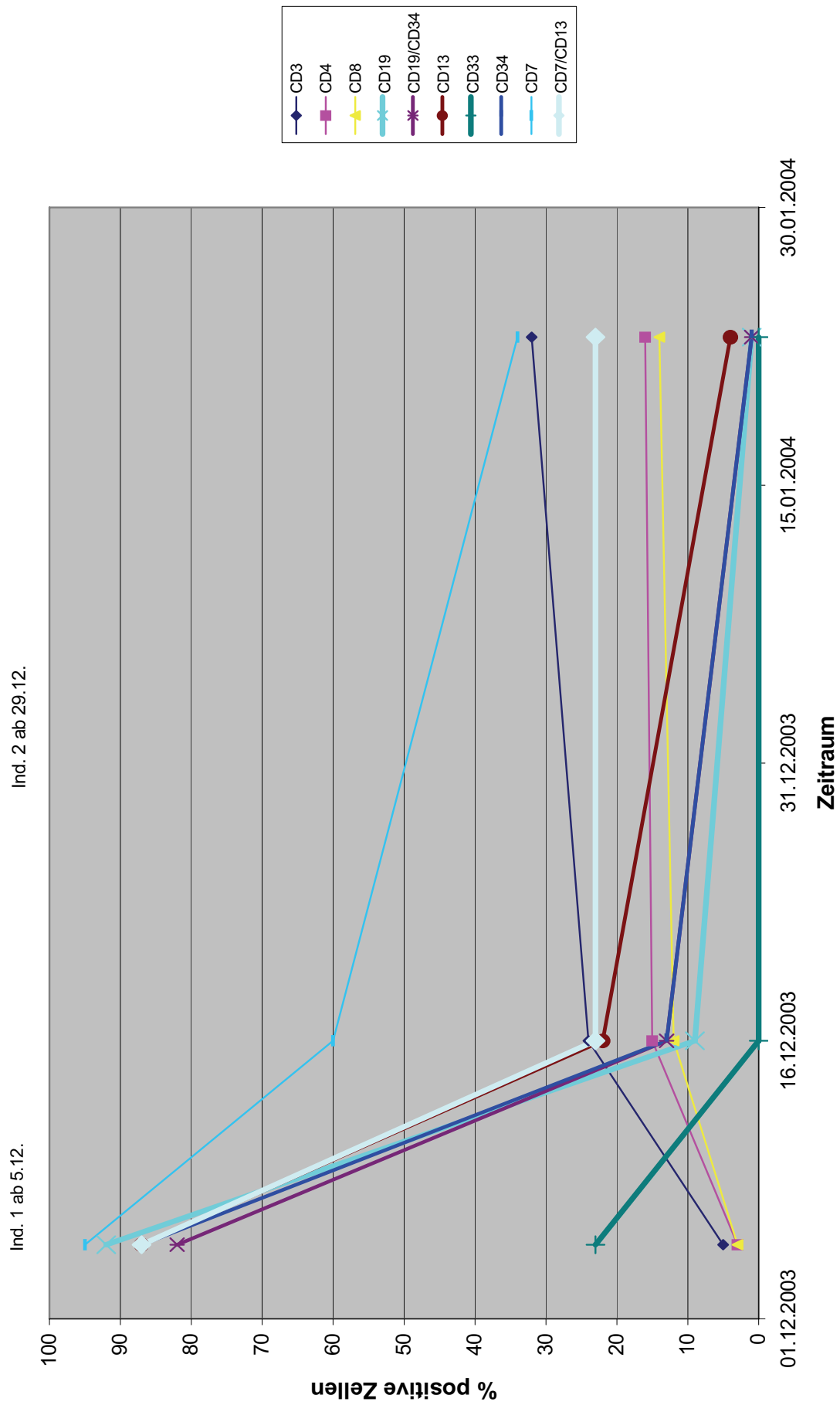
Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

15.06.2000

Z: im Markblut dominieren kleine blastäre Zellen und Lymphozyten, Diagnose mittels
Immunphänotypisierung: prä-B-ALL mit Stammzellmarkern

H: akute myeloische Leukämie, der Zellbestand wird zu fast 100% durch Blasten gebildet
H, 2. Bericht: Bestätigung der klinischen Verdachtsdiagnose einer B-zelligen ALL.

Patient 17, männlich, 50 Jahre, biphänotyp. ALL



Zytologie, Blasten :	5.12.03 > 90%	16.12.03 "Zahlreiche"	14.01.04 < 5%	23.01.04 7 %
-------------------------	------------------	--------------------------	------------------	-----------------

Therapieverlauf von Patient 17, männlich, geb. 29.08.1953, Alter bei ED 50 Jahre

Bei dem Patienten wurde 12/2003 die Erstdiagnose einer unreifen biphänotypischen ALL gestellt.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 6/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 5.12.2003 Induktion 1, Induktion 2

Der Patient verstarb während der laufenden Therapie an einer respiratorischen Insuffizienz.

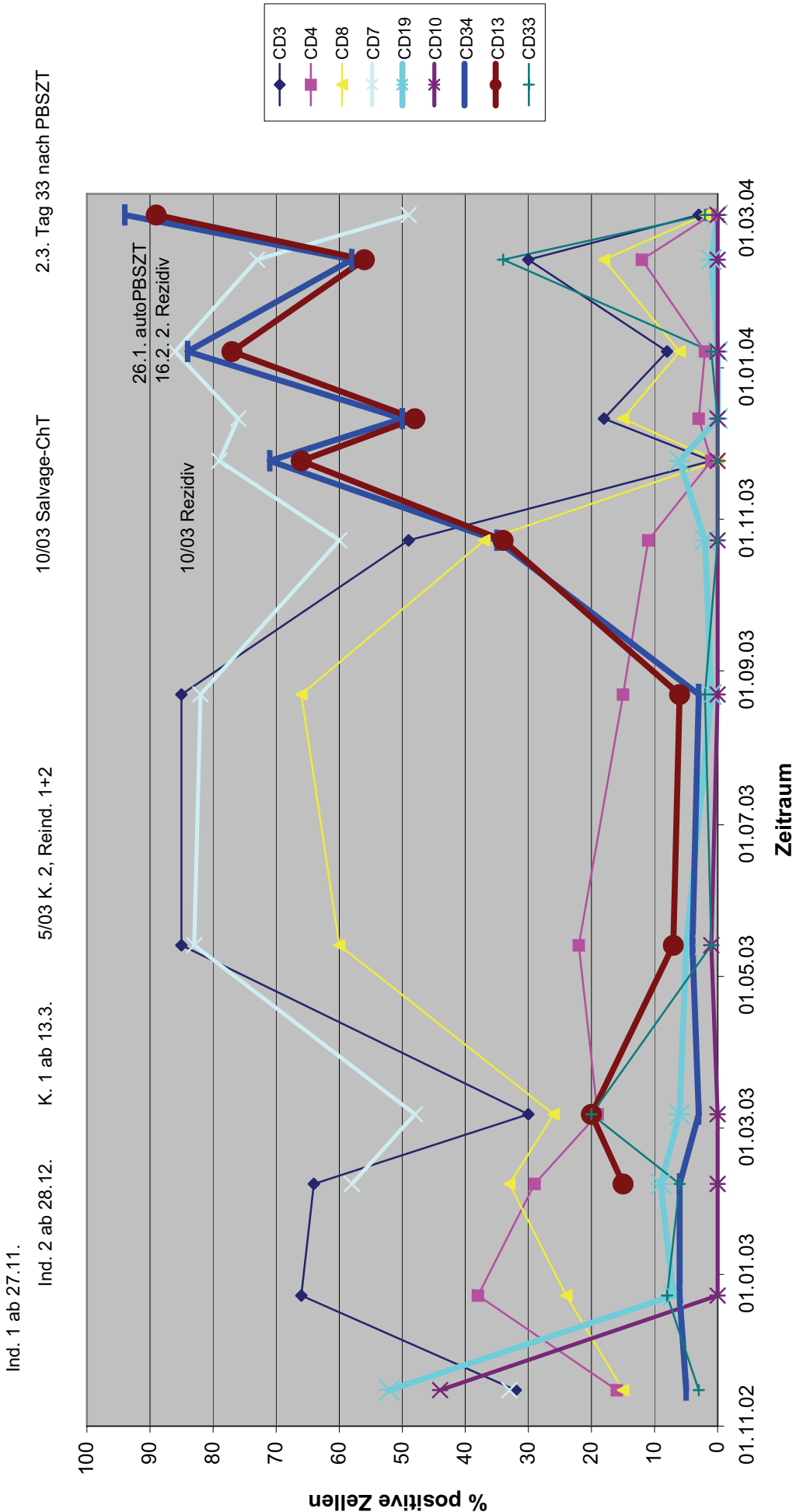
Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

05.12.2003

Z: stark hyperzelluläres KM, subtotale Infiltration d. KM durch vorwiegend blastäre, z. T. lymphozytäre Zellen

H: immunhistochemisch ALL, kein Beweis für B-ALL, aber auch T-ALL nicht eindeutig zu belegen

Patient 18, weiblich, 57 Jahre, biphänotyp. ALL



Zytologie, Blasten :	14.11.02	23.12.02	20.06.03	22.08.03	09.10.03	23.10.03	07.01.04	16.02.04
	> 90%	17,2%	8%	10%	22%	14,3%	40%	66,25%

Therapieverlauf von Patient 18, weiblich, geb. 23.09.1945, Alter bei ED 57 Jahre

Bei der Patientin wurde 11/2002 die Erstdiagnose einer c-ALL gestellt, welche im weiteren Verlauf als biphänotypische ALL eingestuft wurde.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 6/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 22.11.2002	Vorphase, Induktion 1, Induktion 2
ab 13.3.2003	Konsolidierung 1, Konsolidierung 2, Reinduktion 1, Reinduktion 2
10/2003	1. Rezidiv bei Zustand nach Block 1 der Konsolidierung 3 Salvagechemotherapie hAC (Cytosinarabinosid/Cyclophosphamid) Therapieevaluation: Blastenpersistenz
Ab 18.01.2004	Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cytosinarabinosid und VP 16
26.01.2004	autologe PBSZT
16.02.2004	2. Rezidiv

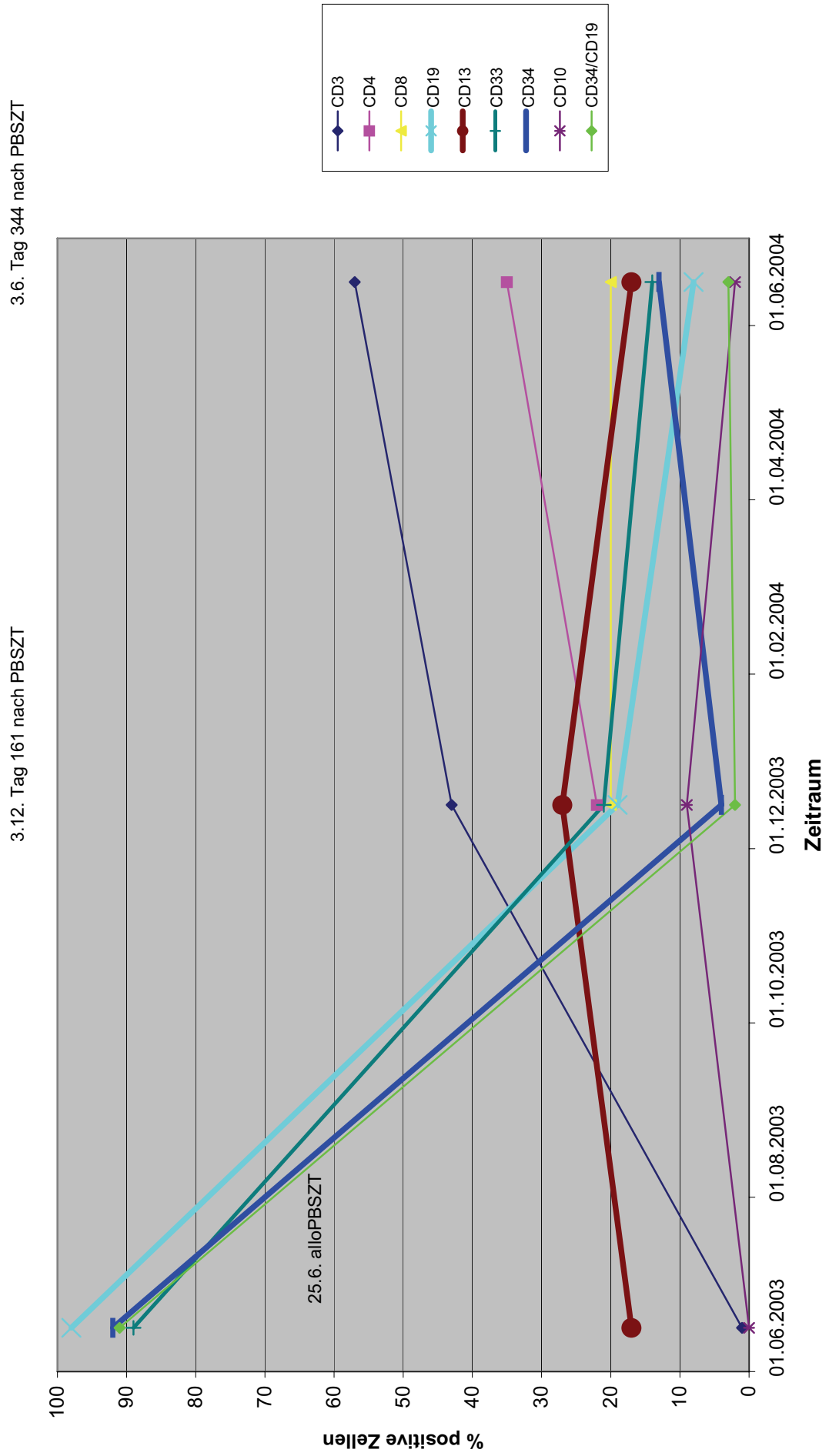
Die Patientin verstarb in Folge des Rezidivs.

Zytologie bei Erstdiagnose

14.11.2002

Z: nahezu subtotale Infiltration des KM durch blastäre Zellen und eingestreute kleine Lymphozyten, konkrete Leukämietypisierung bleibt der immunzytologischen Analyse vorbehalten

Patient 19, weiblich, 19 Jahre, biphänotyp. ALL



Zytologie,	11.06.03	21.07.03	03.06.04
Blasten :	90%	5%	< 5%

Therapieverlauf von Patient 19, weiblich, geb. 01.06.1983, Alter bei ED 19 Jahre

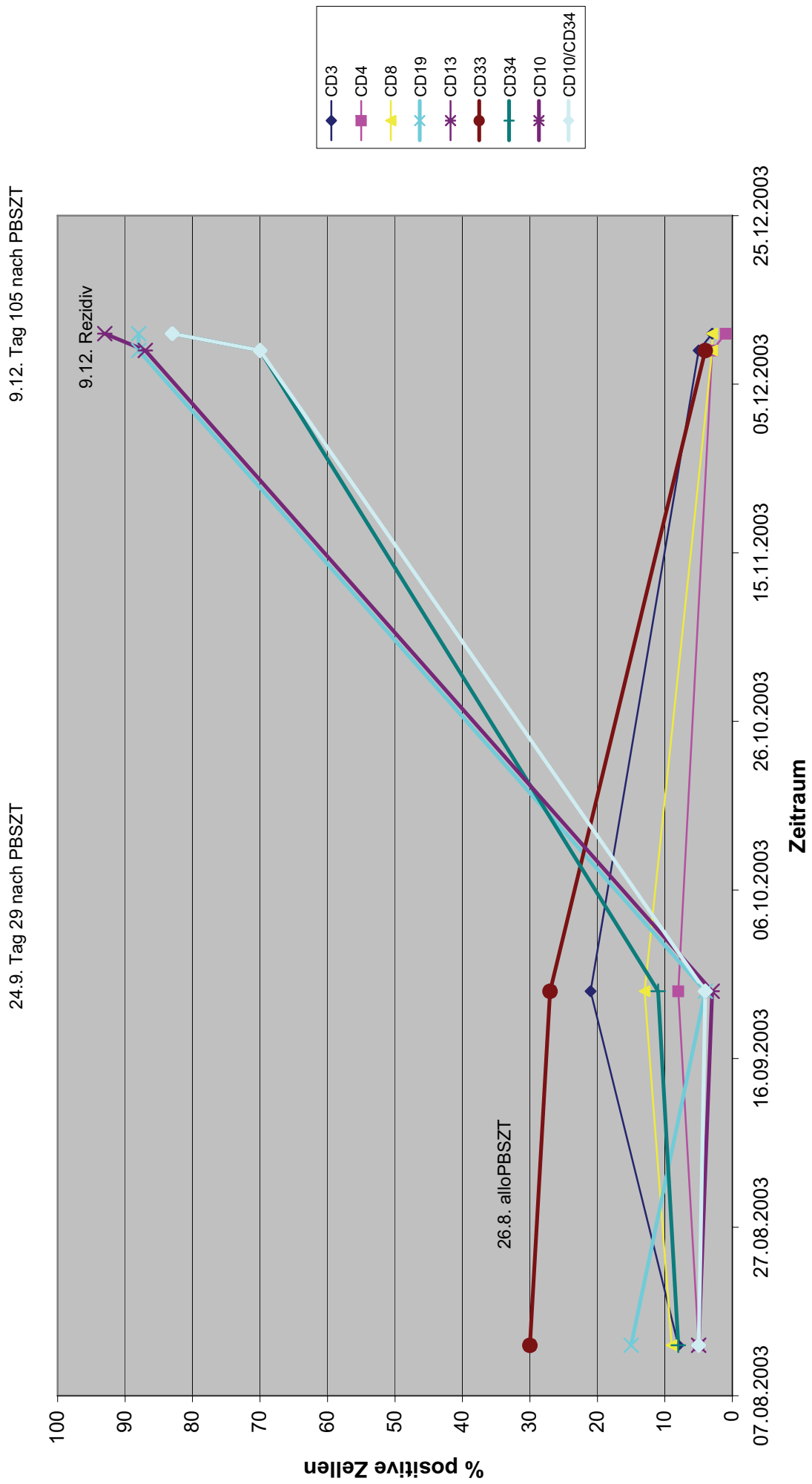
Bei der Patientin wurde 11/2002 die Erstdiagnose einer biphänotypischen akuten Leukämie gestellt.

Doppelinduktionschemotherapie (Doxorubicin / Ara-C, OSO - Protokoll 2002 / Intergroup)

ab 7.11.2002	Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2
04/2003	Rezidiv
	Therapie nach Mitoxantron / FLAG - Protokoll
	Therapieevaluation: Blastenpersistenz
Ab 17.06.2003	Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna
25.06.2003	allogene PBSZT
	zur Nutzung des GvL-Effekts keine Gabe von MTX, GvHD-Prophylaxe mit Ciclosporin A

Der zytologische Befund zum Zeitpunkt der Erstdiagnose war nicht eruierbar.

Patient 20, weiblich, 22 Jahre, c-ALL, ED AML



Zytologie, Blasten :	13.08.03 < 5%	24.09.03 < 5%	09.12.03 > 90%
-------------------------	------------------	------------------	-------------------

Therapieverlauf von Patient 20, weiblich, geb. 09.07.1980, Alter bei ED 22 Jahre

Bei der Patientin wurde 12/2002 in einer auswärtigen Klinik die Erstdiagnose einer AML gestellt, welche im weiteren Verlauf als c-ALL eingestuft wurde.

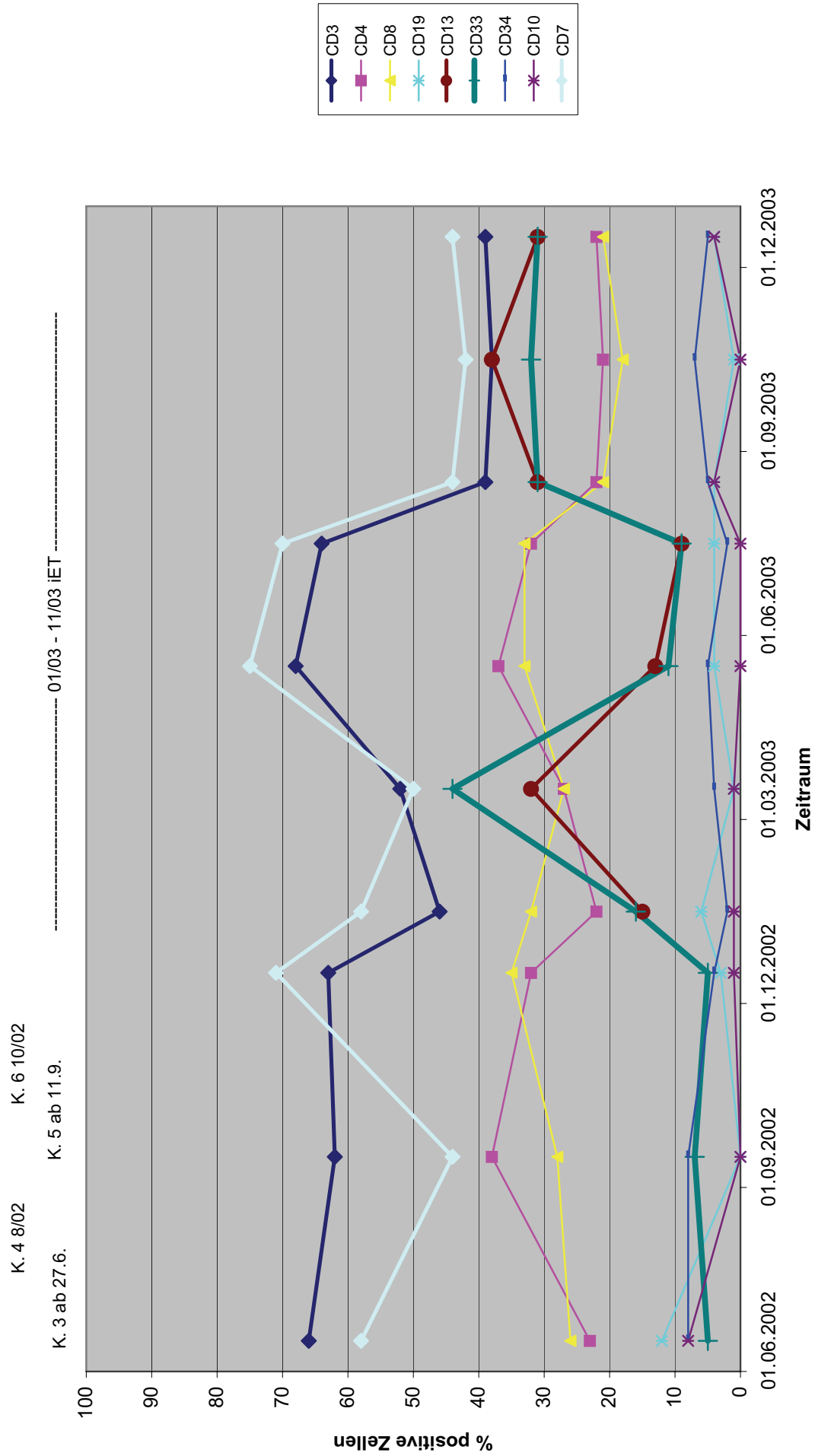
Therapie nach der Multizentrischen Studie der OSHO 2002

Ab 12/02	Induktion 1; Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2 nach dem MITO-FLAG-Protokoll
08.07.2003	Meningeosis leucaemica 6 x intrathekale Applikation von 40 mg Ara-C, 15 mg MTX und 4 mg Dexamethason
ab 08/2003	Konditionierung vor PBSZT mit TBI, Cyclophosphamid und Mesna
26.08.2003	allogene PBSZT
9.12.2003	Rezidiv der ALL Gabe von HD-MTX und Asparaginase
26.01.2004	Umstellung auf 2 x 100 mg Ara-C i.v.

Die Patientin verstarb am 30.01.2004 an ihrem Grundleiden.

Der zytologische Befund zum Zeitpunkt der Erstdiagnose war nicht eruierbar.

Patient 21, weiblich, 38 Jahre, T-ALL



Zytologie, Blasten :	07.11.01	26.06.02	23.09.02	02.12.02	17.01.03	21.05.03	17.07.03	20.08.03	21.10.03	02.12.03
	> 90%	7,8%	6%	< 5%	< 5%	< 5%	10%	< 5%	< 5%	5,25%

Therapieverlauf von Patient 21, weiblich, geb. 07.04.1963, Alter bei ED 38 Jahre

Bei der Patientin wurde 11/2001 eine T-ALL mit mediastinalem Bulk diagnostiziert.

Therapie nach Hoelzer-Protokoll 06/99, Standardrisiko nach Stratifikation der Risikofaktoren

ab 09.11.2001 Vorphase ohne Cyclophosphamid
ab 13.11.2001 Induktion 1, Induktion 2, Konsolidierung 1, Konsolidierung 2,
Reinduktion 1, Reinduktion 2
ab 05/2002 Erhaltungstherapie mit 6-MP und MTX laut Protokoll
intermittierend zwischen den Konsolidierungen 3 - 6
ab 01/2003 intensivierte Erhaltungstherapie laut Protokoll

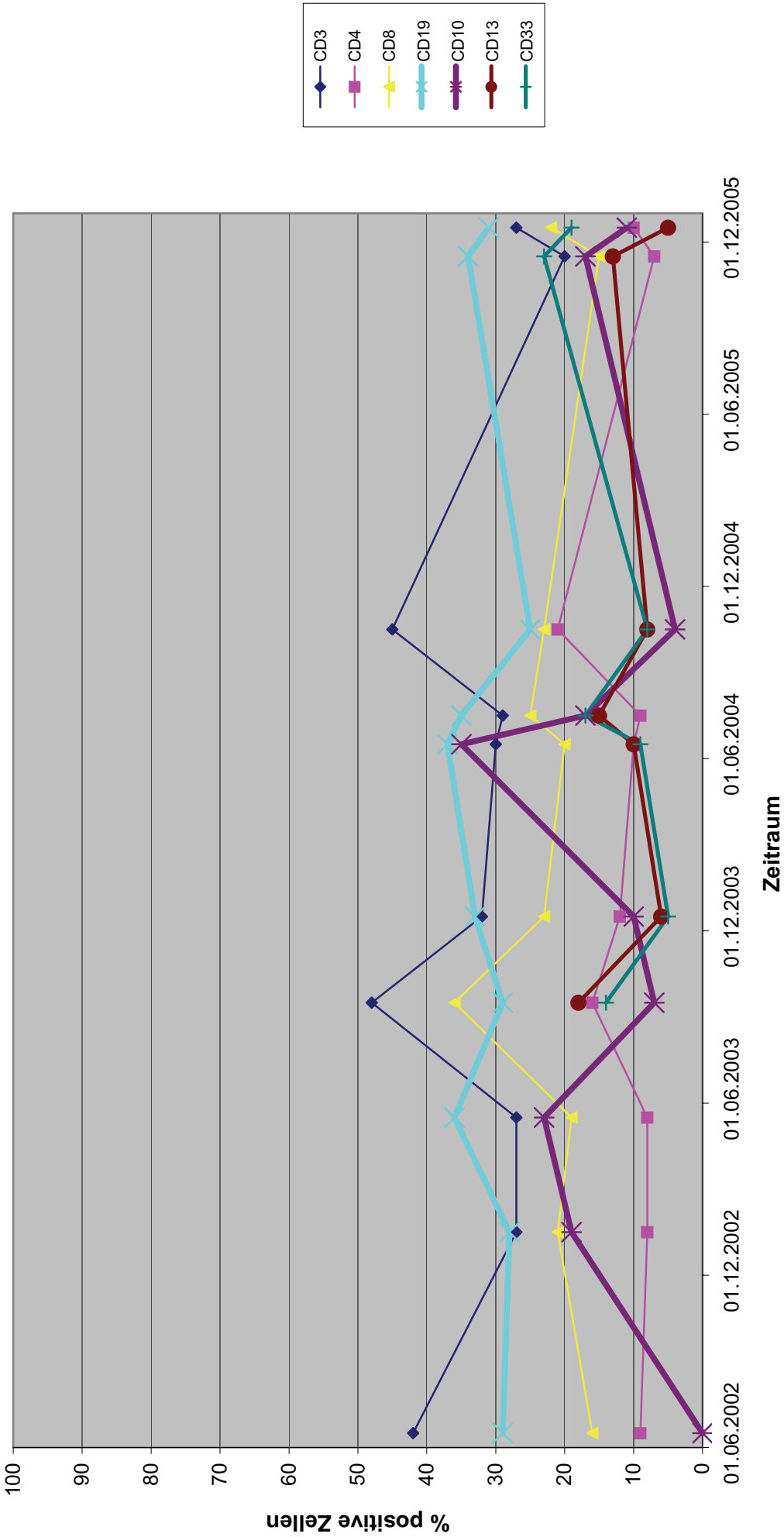
Zytologie und Histologie bei Erstdiagnose

07.11.2001

Z: subtotale Infiltration durch blastäre Zellen; die Ergebnisse von Immunphänotypisierung und Zytochemie der Zellen des peripheren Blutes sind mit dem Vorliegen einer T-ALL zu vereinbaren

H: Infiltration des hämatopoetischen Markes durch lymphozytoide Zellpopulationen; dies ist einer ALL zuzuordnen, immunhistochemisch mit einer T-ALL vereinbar

Patient 22, weiblich, 58 Jahre, B-ALL



Zytologie, Blasten :	03.09.01	18.06.02	21.01.03	06.05.03	09.09.03	09.12.03	08.06.04	27.07.04	19.10.04	01.11.05	21.12.05
	> 90%	9,5%	7%	< 5%	< 5%	6,14 %	6,6 %	5,5%	< 5%	8,3%	5,7%

Therapieverlauf von Patient 22, weiblich, geb. 27.03.1943, Alter bei ED 58 Jahre

Bei der Patientin wurde 8/2001 die Erstdiagnose einer B-ALL gestellt.

Therapie nach B-ALL-Protokoll 5/93

ab 24.09.2001 3x Block A, 2x Block B

01/2002 Staphylokokkensepsis, intensivmedizinische Betreuung, anschließend
Verzicht auf dritten Block B wegen schwerer Nebenwirkungen und
kardialer Dekompensation

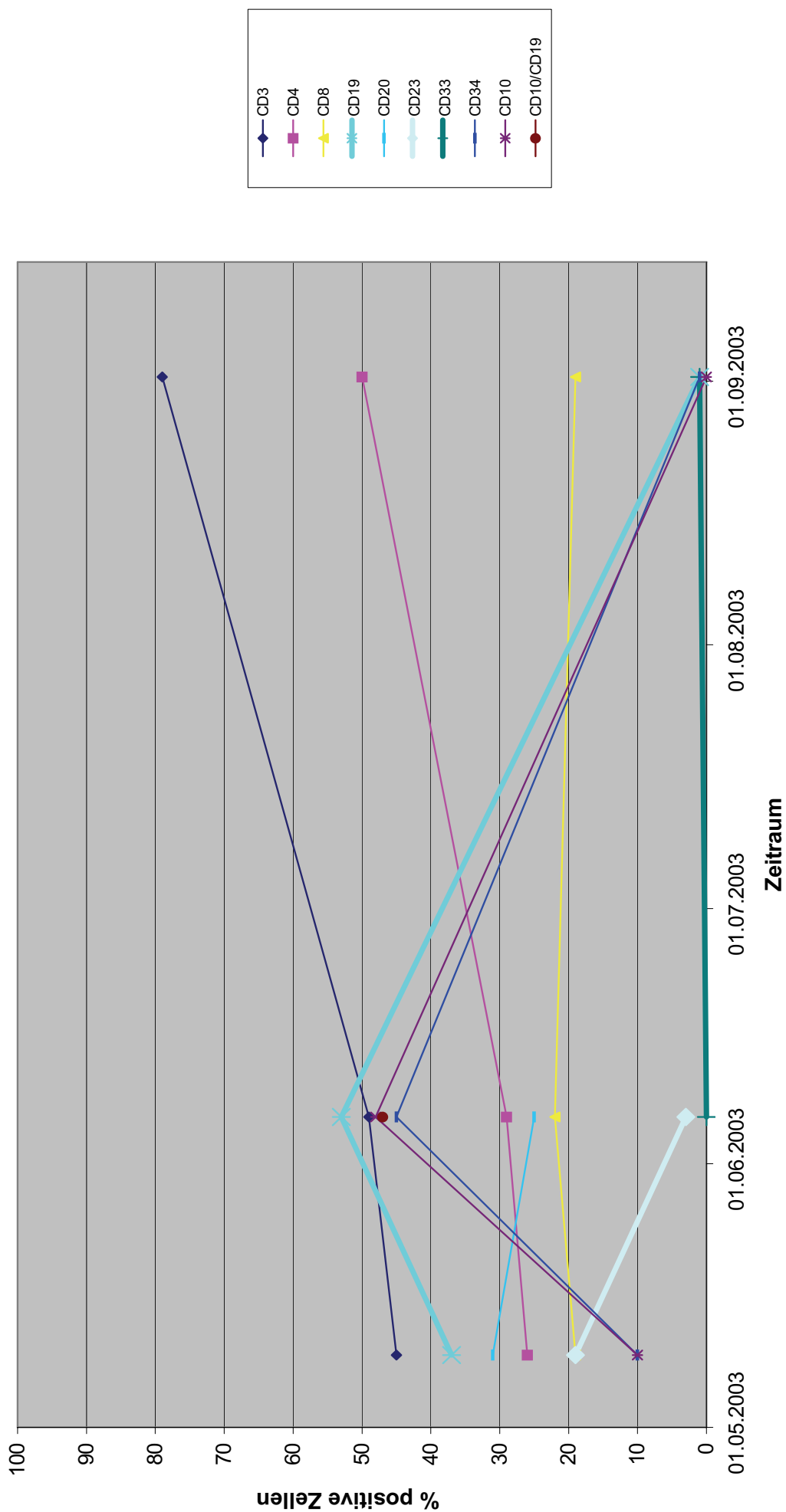
Histologie bei Erstdiagnose

03.09.2001

Dichte Infiltration des Knochenmarkes durch lymphoide Zellen

Patient 23, weiblich, 78 Jahre

16.7. - 15.9. Therapie, siehe umseitig



Zytologie, Blasten :	09.05.03 > 90%	06.06.03 > 90%	01.09.03 5%
-------------------------	-------------------	-------------------	----------------

Therapieverlauf von Patient 23, weiblich, geb. 15.04.1925, Alter bei ED 78 Jahre

Bei der Patientin wurde 5/2003 eine maligne Erkrankung festgestellt, wobei die Diagnose unklar war, differenzialdiagnostisch wurden ein follikuläres Lymphom und eine c-ALL in Betracht gezogen.

26.06.-15.7.2003 Prednisolon p.o.

ab 16.07.2003 Prednisolon i.v., Daunorubicin, Vincristin

ab 03.09.2003 MTX i.v., 6-MP p.o.

Die Patientin verstarb am 18.09.2003 an respiratorischer Globalinsuffizienz.

Histologie bei Erstdiagnose

09.05.2003

H: weitgehende Verdrängung der Hämatopoese durch zellige Infiltrate, die unter Einbeziehung des Immunphänotyps einer akuten lymphatischen Leukämie zuzuordnen sind

Einzelfalldiskussion

Im Folgenden werden die Krankengeschichten der Patienten einzeln besprochen und die Verläufe diskutiert. Dabei werden im Einzelnen die erkrankten Zellen, Zellen mit myeloischen Markern, das CD4/CD8-Verhältnis und vergleichend die Ergebnisse der zytologischen Untersuchung betrachtet.

1. Patienten mit bcr-abl-positiver c-ALL

1.1. Patient 1, mit Koexpression myeloischer Marker, m, ED 02/03 als biphänotypische ALL

Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose wurde die erste immunzytologische Untersuchung durchgeführt. Dabei wurde der Patient unter der Diagnose einer biphänotypischen Leukämie nach dem OSO-Protokoll für die AML behandelt. Hierauf sprach die Erkrankung nicht an; es waren weiterhin die gleichen Zellen ohne wesentliche zahlenmäßige Verringerung nachzuweisen, d.h. die Marker CD 19, CD 10, CD 13 und CD 34 lagen weiter bei fast 90 %. Daraufhin erfolgte einer Rezidivtherapie der AML („Salvage-Therapie“ nach dem AIDA-Protokoll mit hochdosiertem Cytosinarabinosid und Cyclophosphamid), auf die die Zellen gut ansprachen, jedoch immunzytologisch weiterhin nachweisbar blieben. Vor der angestrebten allogenen PBSZT war ein erneuter Anstieg der klonalen Zellen zu erkennen. Nach der Transplantation am 1.7.2003 blieben die klonalen Zellen weiter nachweisbar, wenn auch zunächst geringer als vor der Transplantation. Am Tag 105 nach PBSZT war erneut ein Anstieg der Zellen mit den vorbekannten Markern zu verzeichnen. Dies wurde als Frührezidiv gewertet, woraufhin die Immunsuppression abgesetzt wurde um eine GvL-Reaktion zu induzieren. Bis zum Ende der Beobachtungszeit waren die pathologischen Zellen dann nicht mehr nachweisbar. Allerdings war nun zu beobachten, dass die T-Zellen massiv anstiegen, was sich klinisch in einer schweren GvHD des Darmes manifestierte. Damit konnte die Leukämie durch die GvL offenbar in Schach gehalten werden, gleichzeitig war die GvHD aber so massiv, dass sie zum Tode des Patienten führte.

Zellen mit myeloischen Markern

Der Verlauf des myeloischen Markers CD 13, der primär auch auf den pathologischen Zellen koexprimiert war, wich nach der PBSZT von dem der Zellen mit den ursprünglichen Markern CD 19, CD 10 und CD 34 ab, und zwar i. S. einer Erhöhung nach der Transplantation. Es ist nicht eindeutig festzustellen, ob dies durch Regeneration des Knochenmarkes nach der Transplantation begründet ist, und es sich damit um normale myeloische Vorläuferzellen handelte. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass sich hier bereits wieder pathologische

Zellen entwickelten, die entweder trotz Transplantation persistieren konnten und nun wieder expandierten oder die nach der Transplantation neu entstanden sind. Eine Veränderung der Markerexpression bei einem Rezidiv wurde auch von anderen beobachtet (63). Unter der GvL-Reaktion sanken sie jedoch gemeinsam mit den anderen pathologischen Zellen ab, was für ihre Zugehörigkeit zum malignen Klon spricht.

Für den myeloischen Marker CD 33 kann man sagen, dass er ebenfalls von Anfang an mit hohen Werten nachweisbar war und davon auszugehen ist, dass ein Teil der klonalen Zellen diesen Marker ebenfalls koexprimierte. Dieser Marker sprach aber im Gegensatz zu den anderen lymphatischen B-Vorläufermarkern auf die anfängliche Therapie nach OSO an, stieg vor der PBSZT diskret an, um dann nach der Transplantation gemeinsam mit CD 13 einen Spitzenwert von fast 40% zu erreichen. Im weiteren Verlauf verhielt sich CD 33 parallel zu CD 13 und fiel nach Absetzen der Immunsuppression ebenfalls auf fast 0 %. Es könnte sich auch hier um eine regenerative Reaktion des Knochenmarkes gehandelt haben.

CD 4/CD 8

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war ab Beginn der Therapie über den gesamten Verlauf invers. Während die CD 4 positiven Zellen unter Therapie und auch nach der Transplantation keine oder nur eine geringe Erholung zeigten, wobei sie zu keinem Zeitpunkt Normwerte erreichten, stiegen die CD 8 positiven Zellen nach der Chemotherapie stark an, ebenso nach der Transplantation und nach dem Absetzen der Immunsuppression, woraufhin sie möglicherweise an der GvHD beteiligt waren. Es handelte sich insgesamt wahrscheinlich um reaktive Veränderungen unter der Therapie.

Zytologie

Die Ergebnisse der zytologischen Untersuchungen zeigten zum größten Teil gleiche Ergebnisse wie die Immunzytologie i. S. einer Blastenpersistenz: nach Beginn der Chemotherapie waren zytologisch über 90% Blasten, immunzytologisch über 80 % nachweisbar, am Tag 105 nach PBSZT sowohl zytologisch als auch immunzytologisch über 20 % und im weiteren Verlauf bei beiden Untersuchungen unter 5%. Nur unmittelbar nach Transplantation differieren die Angaben mit zytologisch unter 5% Blasten, immunzytologisch jedoch fast 20%.

1.2. Patient 2, w, ED 06/01 als T-ALL

Bei dieser Patientin wurde anfänglich in einer auswärtigen Klinik eine T-ALL diagnostiziert, was jedoch nicht bestätigt werden konnte; es zeigte sich das Bild der c-ALL.

Eine erste immunzytologische Untersuchung konnte hier erst zwischen Konsolidierung 3 und 4 durchgeführt werden. Zu diesem Zeitpunkt lagen die CD 10 positiven und CD 19 positiven Zellen bei einem pathologischen Wert von fast 30%. Dabei handelte es sich um eine Erhöhung der B-Vorläuferzellen, es lag also keine T-ALL vor, wie auswärts diagnostiziert, sondern wohl eine B-determinierte Leukämie ohne komplette Remission. Nach der Konsolidierung 4 sanken die pathologischen Zellen dann auf fast 0%, um dann kurz vor der Konsolidierung 5 wieder auf ähnliche Werte wie vor der Konsolidierung zu steigen. Nach der Konsolidierung 6 fielen die Werte auf unter 10%, wo sie dann bis zum Ende der Beobachtungszeit mit geringen Schwankungen verblieben. Der Verlauf spricht somit für ein insgesamt gutes Therapieansprechen, wenn auch unter den Konsolidierungen stärkere Schwankungen zu verzeichnen sind. Die CD 10 positiven und CD 19 positiven Zellen waren im Verlauf trotz niedriger Werte fast immer präsent, entweder als persistierende pathologische Zellen oder auch im Rahmen einer Regeneration des Knochenmarkes. CD 34 als ein Marker unreifer Zellen war auch hier nachweisbar und verlief teilweise wie die CD 10 positiven und CD 19 positiven Zellen. Es könnte sich dabei um einen von Beginn der Erkrankung koexprimierten Marker handeln, aber auch um ein Zeichen der Knochenmarkregeneration zwischen den einzelnen Therapiezyklen. Insgesamt blieben die CD 34 positiven Zellen aber bis auf einen Untersuchungszeitpunkt unter 10% und würden am ehesten als reaktiv bezeichnet werden. Es findet sich zu keinem Zeitpunkt ein Hinweis für eine T-ALL.

Zellen mit myeloischen Markern

CD 33 lag zu Beginn der Beobachtungszeit bei 0%. Dann ist ein langsamer Anstieg zu beobachten und ein Überschreiten der 10% zu einem Zeitpunkt, zu dem auch die klonalen Zellen wieder anstiegen (vor Konsolidierung 5). Ab diesem Zeitpunkt ist ein ondulierender Verlauf von CD 33 in Abhängigkeit von den Therapiezyklen zu verzeichnen. Dabei wurden Spitzenwerte von fast 50% erreicht. Ab einem späteren Zeitpunkt wurde auch CD 13 mitbestimmt, das ebenfalls wellenförmig in insgesamt höheren Prozentbereichen verlief. Nach Abschluss der Therapie ist ein Abfall über zwei Messzeitpunkte zu verzeichnen, was dafür spricht, dass die Erhöhungen und der wellenförmige Verlauf eine regenerative Reaktion des Knochenmarks bzw. eine Unterdrückung dieser unter der Chemotherapie widerspiegeln. Weiterhin nehmen die oben bereits angesprochenen CD 34 positiven Zellen den gleichen wellenförmigen Verlauf wie die myeloischen Zellen, was die These einer Regeneration stützen würde. Allerdings könnten die starke Erhöhung der myeloischen Zellen und der parallele Verlauf der unreifen CD 34 positiven Zellen auch als ein Linien-switch zu einer

unreifen myeloischen Leukämie interpretiert werden, die den anfänglichen pathologischen Klon ersetzt. Dagegen spricht jedoch der intermittierende Abfall der Zellen; klonale myeloische Zellen würden möglicherweise nicht auf diese Art der Therapie reagieren. Weiterhin ist zu erkennen, dass bei Anstieg der myeloischen Zellen auch die T-Zellen anstiegen, also nicht verdrängt wurden, wie es bei einer malignen Infiltration der Fall wäre und somit auch eher an eine Regeneration denken lassen. Die pathologischen Zellen waren gleichzeitig kaum nachweisbar. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die myeloischen Zellen jederzeit nachweisbar waren, unabhängig von der Frage nach der Genese dieser Erhöhungen.

CD 4/CD 8

Auch hier war das Verhältnis dieser Zellen zueinander invers, wobei die CD 4 positiven Zellen nie Normwerte erreichten und die CD 8 positiven Zellen stets über dem Normbereich lagen.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte zu den Zeitpunkten einer immunzytologischen Erhöhung der pathologischen Zellen ebenfalls erhöhte Blastenwerte, allerdings in geringerem Ausmaß. Im weiteren Verlauf zeigte die Zytologie meist eine komplette Remission; nur vereinzelt war die Blastenzahl erhöht, wobei zu diesen Zeitpunkten kein immunzytologischer Nachweis der pathologischen Zellen vorlag, sondern Anstiege anderer Zellpopulationen sichtbar wurden, die möglicherweise zytologisch als (regenerierende) Blasten imponierten. Damit zeigte diese Patientin eine komplette Remission ihrer Erkrankung am ehesten mit reaktiven Veränderungen in der Myelopoese.

1.3. Patient 3, w, ED 08/01

Auch bei dieser Patientin erfolgte die erste immunzytologische Untersuchung erst zu Beginn der Konsolidierung 3, allerdings nur für CD 34, welches einen hohen Wert aufwies. Zum nächsten Untersuchungszeitpunkt, nach der Konsolidierung 6, befanden sich die Marker der pathologischen Zellen, CD 19 und CD 10, sowie der Stammzellmarker CD 34 unter 10%, was ein Ansprechen der Erkrankung auf die Therapie vermuten lässt; zum Ansprechen des Tumors zu Beginn der Therapie lässt sich leider keine Aussage treffen. Unter der intensivierten Erhaltungstherapie stiegen die pathologischen Zellen zunächst an, bevor sie sich wieder verringerten, was möglicherweise ein verzögertes Ansprechen auf die Therapie schlussfolgern lässt. Zu Beginn des 3. Kurses der intensivierten Erhaltungstherapie trat ein Rezidiv auf, bei dem CD 19 positive, CD 10 positive und CD 34 positive Zellen mit einem

Anteil von mehr als 90% vertreten waren und die anderen Zelllinien komplett verdrängten. Möglicherweise war das verzögerte Therapieansprechen zu Beginn der intensivierten Erhaltungstherapie ein erster Hinweis auf das drohende Rezidiv. Unter der Rezidivtherapie mit Hochdosis-Cytosinarabinosid und Idarubicin war eine Besserung des Befundes zu erkennen, wobei die pathologischen Zellen aber immer noch bei über 20% lagen. Es wurde eine allogene PBSZT angestrebt; kurz vor Beginn der Myeloablation waren die klonalen Zellen aber bereits wieder angestiegen, was ein Hinweis darauf ist, dass der Tumor nicht ausreichend auf die Therapie reagierte. Nach der Transplantation waren zwar keine klonalen Zellen mehr nachzuweisen, allerdings verstarb die Patientin kurz nach der Transplantation an einer schweren GvHD. Insgesamt lässt sich feststellen, dass die pathologischen Zellen im Zeitraum unserer Betrachtung nur mäßig auf die Chemotherapie ansprachen, und dass zwischen den Therapiezyklen immer wieder Anstiege zu verzeichnen waren, woraus ein insgesamt wellenförmiger Verlauf resultiert, der möglicherweise ein Rezidiv schon frühzeitig bei fehlender kompletter oder länger anhaltender Remission ankündigte. Die PBSZT zeigte zwar einen guten Erfolg, zog jedoch eine tödlich verlaufende GvHD nach sich.

Zellen mit myeloischen Markern

Die CD 33 positiven Zellen waren ab dem Beginn der Beobachtungszeit in Bereichen um 10% nachweisbar; es erfolgte kein Anstieg vor dem Rezidiv. Erst unter der Rezidivtherapie kam es zu einem vermehrten Anstieg der myeloischen Zellen, und zwar gemeinsam mit den klonalen Zellen. Nach der Transplantation stiegen die myeloischen Zellen weiter an, wahrscheinlich als Zeichen der beginnenden Regeneration.

CD 4/CD 8

Auch hier ist zu beobachten, dass das Verhältnis dieser Zellpopulationen invers war und dass dabei die CD 8 positiven Zellen immer über dem Normbereich lagen (außer zum Zeitpunkt des Rezidivs, bei dem alle Zellpopulationen durch die pathologischen Zellen vollständig verdrängt wurden) während sich die CD 4 positiven Zellen unter dem Normwert befanden.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte bis zum Zeitpunkt des Rezidivs nur geringe Erhöhungen der Blastenzahlen, z. T. sogar komplette Remission, während in der Immunzytologie immer Residuen sichtbar waren, auch wenn diese offenbar als Folge der Therapiezyklen zahlenmäßigen Schwankungen unterliegen. Das Rezidiv wurde zytologisch erfasst mit einer geringeren prozentualen Blastenangabe als in der Immunzytologie, ebenso die Persistenz der malignen Zellen nach der Transplantation.

2. Patienten mit bcr-abl-negativer c-ALL

2.1. Patient 4, m, ED 12/99

Die erste immunzytologische Untersuchung bei diesem Patienten erfolgte vor Beginn des 5. Kurses der intensivierten Erhaltungstherapie. Zu diesem Zeitpunkt lagen die pathologischen Zellen unter 10%, während die anderen Zellen eine gute Regeneration aufwiesen. Im weiteren Verlauf war nach dem Abschluss der Therapie vorübergehend ein erneuter Anstieg der Zellen mit der CD 10 positiven und CD 19 positiven Expression zu verzeichnen, der allerdings in den nachfolgenden Untersuchungen ohne Therapie wieder abklang. Danach blieben die CD 10 positiven und die CD 10/ CD 19 positiven Zellen in Bereichen unter 10%, während die CD 19 positiven Zellen wieder anstiegen. Es kann nicht eindeutig geklärt werden, ob es sich dabei um die Erholung der gesunden B-Zellen oder um Tumorzellresiduen handelte. Zum Ende der Beobachtungszeit stiegen die CD 10/ CD 19 positiven Zellen wieder leicht an, was auf ein erneutes Wachstum der klonalen Zellen hindeuten könnte oder auch nur eine kurzfristige Schwankung anzeigt. Insgesamt scheinen die Tumorzellen gut auf die Therapie anzusprechen; Angaben zum Ansprechen zu Beginn der Therapie liegen nicht vor. In Anlehnung an die Patienten aus der ersten Vergleichsgruppe könnte man die ständige Persistenz der pathologischen Zellen, wenn auch in relativ niederen Bereichen, als einen Risikofaktor für ein Rezidiv ansehen, was zu weiteren intensiven Beobachtungen anhalten sollte.

Zellen mit myeloischen Markern

Der erste Anstieg der CD 33 positiven Zellen war vor dem 6. Kurs der intensivierten Erhaltung zu sehen. Nach Ende der Therapie fielen die CD 33 positiven und CD13 positiven Zellen zunächst ab, um dann gemeinsam mit den anderen Zellen, einschließlich der pathologischen, wieder anzusteigen. Während die erkrankten Zellen schnell wieder abfielen, stiegen die myeloischen weiter an. Anschließend erfolgte wieder ein Abfall und zum Ende der Beobachtungszeit ein erneuter, aber geringer Anstieg. Damit ergibt sich im Gesamtbild ein andeutungsweise wellenförmiger Verlauf, der zum großen Teil gegenläufig zu den klonalen Zellen verläuft. Daraus kann man möglicherweise auf ein konkurrierendes Verhalten der pathologischen und der gesunden Zellen, v. a. der myeloischen Zellen mit stetigen Werten über dem Normbereich, schließen. Möglicherweise erfüllen diese Zellen spezielle Aufgaben im Rahmen der körpereigenen Tumorbekämpfung und hindern die kranken Zellen an der Vermehrung. Weiterhin ist mit dem ersten Anstieg der myeloischen Zellen ein Abfall der T-Zellen unter Normwerte zu beobachten, was im weiteren Verlauf auch erhalten blieb im Sinne

einer Verdrängung durch die myeloischen Zellen, möglicherweise als Zeichen einer regenerativen Reaktion des Knochenmarkes. Weniger wahrscheinlich ist ein Markerwechsel der Leukämie. Eventuell ist der Verlauf, wie oben bereits erwähnt, ein Zeichen für eine gute Prognose im Sinne einer spezifischen körpereigenen Tumorabwehr.

Im Rahmen des ondulierenden Verlaufes der myeloischen Zellen war kein Rezidiv zu verzeichnen, ebenso wie bei Patient 2, bei dem ebenfalls ein solcher Verlauf der myeloischen Zellen ohne Auftreten eines Rezidivs zu beobachten war. Diese Verläufe könnten möglicherweise eine bessere Prognose anzeigen und es könnte sich um regenerative Reaktionen nach Abschluss der aggressiven zytostatischen Therapie handeln, die über einen langen Zeitraum nach der Therapie anhalten.

CD 4/CD 8

Wie bei allen anderen Patienten war auch hier das Verhältnis ständig invers mit hohen CD 8- und niedrigen CD 4- Werten.

Zytologie

Zytologisch wurde fast immer eine komplette Remission angegeben. Nur zu zwei Zeitpunkten wurde eine diskrete Blastenerhöhung beschrieben, welche durchaus zu den Ergebnissen der Immunzytologie passten, da zu diesen Zeitpunkten auch hier Erhöhungen der pathologischen Zellen vorlagen, allerdings mit unterschiedlichen Zahlenangaben (Bsp. Zytologie 6 % Blasten, zum gleichen Zeitpunkt > 30 % cALLA-Zellen in der Immunzytologie).

2.2. Patient 5, m, ED 12/00

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte vor der Konsolidierung 6. Zu diesem Zeitpunkt waren pathologische Zellen fast nicht nachweisbar, was für ein bis dahin gutes Ansprechen auf die Therapie spricht. Nach der Konsolidierung und vor Beginn der intensivierten Erhaltungstherapie kam es zu einem leichten Anstieg der cALLA-positiven Zellen. Unter der intensivierten Erhaltungstherapie waren die Zellen dann kaum mehr nachweisbar. Nach Abschluss der Therapie stiegen die CD 10 positiven Zellen gemeinsam mit den CD 19 positiven Zellen leicht an, es handelt sich dabei wahrscheinlich um Residuen der Leukämie. Zum nächsten Untersuchungszeitpunkt wichen dann die CD 19 positiven von den CD 10 positiven Zellen ab und stiegen bis zum Ende des Beobachtungszeitraums kontinuierlich bis auf normale Werte an, während die CD 10 positiven Zellen zum Ende hin abfielen. Es handelt sich damit am ehesten um gesunde B-Zellen. Der Stammzellmarker CD 34 verlief über den gesamten Zeitraum gemeinsam mit den CD 19 positiven und CD 10 positiven Zellen, es ist damit anzunehmen, dass dieser Marker ebenfalls auf den klonalen

Zellen exprimiert wurde. Dies ist nicht ungewöhnlich bei der c-ALL. Zum Ende fiel er mit den CD 10 positiven Zellen ab. Insgesamt ist der Verlauf als günstig zu bezeichnen. Im Beobachtungszeitraum wurde kein Rezidiv diagnostiziert.

Zellen mit myeloischen Markern

Auch hier waren unreife myeloische Zellen zu jedem Zeitpunkt nachweisbar. Bis zum 6. Kurs der intensivierten Erhaltungstherapie blieben sie unter zehn Prozent, zu Beginn des Kurses stiegen sie stark an und verfolgten dann bis zum Ende der Beobachtungszeit einen wellenförmigen Verlauf mit einem deutlichen Abfall am letzten Messpunkt; auch bei diesem Patienten eventuell als Zeichen einer günstigen Prognose zu werten. Hier scheinen die myeloischen Zellen nicht gegenläufig zu den pathologischen Zellen, stattdessen aber zu den T-Zellen zu verlaufen. Außerdem fällt auf, dass auch hier mit dem Anstieg der myeloischen Zellen ein Abfall der T-Zellen unter Normwerte einherging.

CD 4/CD 8

Auch bei diesem Patienten ist über den gesamten Verlauf ein inverses Verhältnis mit hohen CD 8- und niedrigen CD 4-Werten zu beobachten.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte zu den meisten Zeitpunkten ebenso wie die Immunzytologie eine komplette Remission; nur vereinzelt waren zytologisch die Blastenzahlen leicht erhöht, was in der Immunzytologie aber nicht bestätigt werden konnte.

2.3. Patient 6, m, ED 03/01 als T-ALL

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte vor Beginn der intensivierten Erhaltungstherapie. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die CD 19 positiven Zellen bei 30 % mit einem weiteren Anstieg bis zum Beginn des 1. Kurses. Unter Therapie fielen die Zellen auf fast 0% zurück, sprachen also gut auf die Therapie an; kurz darauf kam es aber zu einem erneuten Anstieg auf über 25%. Unter Fortführung der Therapie fielen die Zellen wiederum ab, stiegen nach dem Ende der Therapie erneut auf fast 40% an und pendelten sich dann auf einem Niveau um 25% ein. Die CD 10 positiven und CD 10/CD 19 positiven Zellen verliefen gemeinsam mit den CD 19 positiven Zellen, aber mit geringeren Prozentwerten; es befanden sich wahrscheinlich auch einige gesunde B-Zellen unter den CD 19 positiven Zellen. Nach Therapieende wurde die Differenz zwischen diesen Zellen noch größer; die CD 10 positiven und CD 10/CD19 positiven Zellen pendelten sich bei ca. 15% ein und fielen gegen Ende unter 10% ab. Es zeigt sich also wahrscheinlich eine etwas überschießende Regeneration der B-Zellen, es könnte sich aber auch um cALLA-negative Leukämiezellen handeln. Da die Zellen

gegen Ende aber eine fallende Tendenz zeigten und nicht massiv erhöht waren, trifft am ehesten die Regeneration zu. Insgesamt lässt sich sagen, dass die pathologischen Zellen nicht dauerhaft absanken und jederzeit mit relativ hohen Werten nachweisbar waren, was möglicherweise als prognostisch ungünstiger anzusehen ist (siehe Patienten 1 und 3, Rezidiv bei zuvor konstant erhöhten pathologischen Zellen). Hinweise auf Zellen einer T-ALL finden sich zu keinem Zeitpunkt, sodass die Richtigkeit der Diagnose T-ALL zu hinterfragen ist.

Zellen mit myeloischen Markern

Die CD 33 positiven Zellen waren von Anfang an und über den gesamten Verlauf nachweisbar. Der höchste Wert wurde vor dem 6. Kurs der intensivierten Erhaltungstherapie erreicht, danach kam es wieder zum Abfall bei gleichzeitigem Wiederanstieg der CD 19 positiven und CD 10/CD 19 positiven Zellen. Insgesamt kann man auch hier einen wellenförmigen Verlauf beobachten mit entgegengesetztem Verhalten zu den pathologischen Zellen, d.h. bei Anstieg der pathologischen Zellen kam es zum Abfall der myeloischen Zellen. Außerdem kam es auch hier zu einem Abfall der T-Zellen zum Zeitpunkt des Anstieges der myeloischen Zellen. Zum Ende der Beobachtungszeit kam es bei einem allgemeinen Abfall der Zellzahlen zu einem leichten Anstieg von CD 33 positiven Zellen, dessen Wertigkeit erst im weiteren Verlauf geklärt werden kann.

CD 4/CD 8

Hier lag wie bei den anderen Patienten ein inverses Verhältnis dieser Zellen mit erhöhten CD 8 positiven und erniedrigten CD 4 positiven Zellen vor.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung ergab zu den meisten Zeitpunkten eine komplette Remission; ansonsten nur mäßige Erhöhungen der Blastenzahlen. Diese lagen immer niedriger als die immunzytologischen Ergebnisse, die jederzeit höhere Werte der pathologischen Zellen angaben und die Residuen deutlich zeigten.

2.4. Patient 7, w, ED 08/01

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Dabei zeigte sich eher das Bild einer biphänotypischen Leukämie. Das Knochenmark war zu einem großen Prozentsatz durch Zellen mit den Markern CD 19, CD 34 und CD 33 infiltriert, CD 10 fand sich gar nicht, entsprechend dem von Gleissner et al. beschriebenen Phänotyp (20). Die pathologischen Zellen sprachen gut auf die Therapie an; nur CD 33 sprach weniger gut an, d.h. die CD 33 positiven Zellen persistierten und sprachen erst auf die Reinduktion an. Diese Zellen waren offenbar nicht so empfindlich für die Therapie der lymphatischen

Leukämie. Im weiteren Verlauf stiegen erst die CD 19 positiven, dann die CD 33 positiven Zellen wieder an, jetzt erst mit einem Nachweis von CD 10. Zwei Monate nach der dritten Konsolidierung wurde ein Rezidiv diagnostiziert und daraufhin eine Rezidivtherapie mit Hochdosis - Cytosinarabinosid und Idarubicin durchgeführt. Daraufhin trat keine Besserung ein und der Zustand der Patientin verschlechterte sich im weiteren Verlauf bis zum Tod aufgrund der Grunderkrankung. Immunzytologisch war bereits vor dem Zeitpunkt des diagnostizierten Rezidivs ein Anstieg der CD 19 positiven Zellen zu verzeichnen, anschließend der CD 33 positiven Zellen, die vorher kurzzeitig abgesunken waren, sowie der CD 34 positiven Zellen und ein Verlust von CD 10, wie von Tomova et al. beschrieben (63). Zum Zeitpunkt des zytologisch diagnostizierten Rezidivs mit über 50% Blasten erreichten die CD 19 positiven Zellen nur die 20%-Grenze, die CD 33 positiven die 30%-Grenze. Unter der Rezidivtherapie kam es nur noch zu einer leichten Reduktion der Zellen mit den Markern CD 19 und CD 34, kurz darauf erfolgte ein massiver Anstieg der vorbekannten Marker bis auf fast 100% mit dem jetzt offensichtlichen Rezidiv. Auf Grund der Koexpression von CD 33 und CD 34 wurde außerdem ein Linien-switch angenommen. Dies scheint unzutreffend, da die myeloischen Marker bereits klar von Anfang an koexprimiert waren.

Zellen mit myeloischen Markern

Da der myeloische Marker CD 33 auf den pathologischen Zellen koexprimiert war, wurde er bereits unter dem vorherigen Abschnitt mit besprochen. Der Marker CD 13 ist über den gesamten Verlauf zu verfolgen. Kurz vor dem Rezidiv stieg er deutlich an, während die CD 33 positiven Zellen zu diesem Zeitpunkt abfielen und die CD 19 positiven Zellen schon anstiegen. Es stellt sich also auch hier wieder die Frage, ob der Anstieg der myeloischen Zellen in diesem Falle als Prädiktor vor einem Rezidiv gewertet werden kann.

CD 4/ CD 8

Die Marker wurden nicht über den gesamten Verlauf bestimmt; im Bestimmungszeitraum fand sich hier ebenfalls ein inverses Verhältnis mit normalen CD 8- und erniedrigten CD 4- Werten.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte über den gesamten Verlauf erhöhte Blastenwerte, die immunzytologisch den CD 33 positiven Residuen der Leukämie entsprechen müssten. Der Beginn des Rezidivs wurde auf Grund der zytologischen Werte diagnostiziert, wobei hierbei über 50% Blasten angegeben wurden, während immunzytologisch nur 20% pathologische Zellen nachweisbar waren, wie oben bereits erörtert. Zytologisch stellte sich zu diesem Zeitpunkt die Frage, ob die hohe Blastenzahl durch Neupogen induziert sein könnte. Diese

Frage ließ sich mit den vorhandenen Dokumenten nicht klären, so dass das erste Rezidiv zytologisch nicht eindeutig gesichert wurde.

2.5. Patient 8, m, ED 05/01

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte vor der Konsolidierung 5. Zu diesem Zeitpunkt befand sich das Knochenmark in der Regeneration; die T-Zellen waren im Normbereich, die pathologischen CD 19 positiven , CD 10 positiven und CD 10/CD 19 positiven Zellen waren nicht nachweisbar. Kurz darauf stiegen sie jedoch dramatisch an, während die Zellen mit den anderen Markern stark absanken. Dies könnte als ein Rezidiv interpretiert werden. Es erfolgte eine Fortführung des ALL-Protokolls. Daraufhin zeigte sich zunächst eine nur mäßige Reduktion, protrahiert dann aber ein Abfall der pathologischen Zellen auf fast 0%. Allerdings erfolgte darauf erneut ein Anstieg der CD 10 positiven , CD 19 positiven und CD 19/CD 10 positiven Zellen und dann weiterhin ein Anstieg der CD 19 positiven Zellen bis auf über 40 %, während die anderen pathologischen Marker nicht weiter anstiegen, sondern gleich blieben und zum Ende sogar wieder abfielen. Möglicherweise handelt es sich bei einem Teil dieser Zellen um gesunde regenerierende B-Zellen bei überschießender Regeneration der B-Zellen; es könnten aber auch cALLA-negative pathologische B-Zellen gewesen sein. Der Stammzellmarker CD 34 war meist nur in niederen Bereichen nachweisbar, nur einmal kam es zu einem steilen Anstieg und einem ebenso steilen Abfall, was als Regeneration gewertet werden kann. Insgesamt zeigten die pathologischen Zellen einen sehr wechselhaften Verlauf, wobei sie zu jedem Zeitpunkt nachweisbar blieben und sich in Bereichen um 15% bewegten, was im Sinne einer eventuell höheren Anfälligkeit für ein Rezidiv weiter beobachtet werden sollte.

Zellen mit myeloischen Markern

Der Marker CD 33 war von Anfang an mitbestimmt worden und auch in geringer Anzahl nachweisbar. Ein leichter Anstieg von CD 33 und ein starker Anstieg von CD 13 war vor dem 6. Kurs der intensivierten Erhaltungstherapie, wie auch schon bei Patient 6, zu verzeichnen. Es könnte sich dabei um eine stärkere Regenerationsaktivität als Reaktion auf die Medikamente im 5. Kurs der intensivierten Erhaltungstherapie nach diesem Zyklus handeln. Ebenso wie bei Patient 6 kam es nach diesem Anstieg der myeloischen Zellen auch zu einem Wiederanstieg der pathologischen Marker. Im weiteren Verlauf sanken die myeloischen Marker ohne weitere Therapie bei Persistenz der erkrankten Zellen wieder ab. Zum Ende des Beobachtungszeitraumes stiegen sie wieder leicht an, während die CD 19 positiven und CD 10/CD 19 positiven Zellen absanken.

CD 4/CD 8

Auch hier ist ein stetig inverses Verhältnis mit mäßig erhöhten CD 8 positiven und erniedrigten CD 4 positiven Zellen zu verfolgen.

Zytologie

Die zytologische und histologische Diagnose war offenbar bereits bei Diagnosestellung umstritten. Zu Beginn der Beobachtungszeit zeigte die Zytologie nur einen im Vergleich zu der immunzytologischen Untersuchung geringen Blastenanstieg und die nachfolgende Persistenz der pathologischen Zellen in der Immunzytologie war in der Zytologie nicht nachweisbar (Angabe einer kompletten Remission). Auch im weiteren Verlauf bei Wiederanstieg der pathologischen Zellen in der Immunzytologie war bei der zytologischen Untersuchung nur ein gering erhöhter oder normaler Blastenanteil nachweisbar.

2.6. Patient 9, m, ED 06/00

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zum Zeitpunkt eines Rezidivs vor Beginn der Rezidivtherapie. Es waren stark erhöhte Werte für die Marker CD 19, CD 34 und CD 10 festzustellen. Auf die ALL-Rezidivtherapie mit Hochdosis-Cytosinarabinosid und Idarubicin war ein gutes Ansprechen zu verzeichnen, die pathologischen Marker sanken unter 10%. Im weiteren Verlauf bis zur allogenen PBSZT war ein Wiederanstieg der vorbekannten Marker zu sehen. Einen Monat nach der Transplantation waren die erkrankten Zellen nur noch in geringen Zahlen nachweisbar, doch nach vier Monaten war ein starker Anstieg zu erkennen, der als Rezidiv eingestuft und entsprechend therapiert wurde. Die Tumorzellen stiegen trotz Therapie weiter an. Zum Ende der Beobachtungszeit waren fast 90% der Zellen pathologisch. Daraufhin erfolgte eine palliative Chemotherapie, über deren Verlauf und Ergebnis keine Aufzeichnungen vorliegen. Insgesamt ergibt sich aus der Tatsache, dass das erste Rezidiv bereits kurz nach Ende der intensivierten Erhaltungstherapie auftrat, schon eine schlechtere Prognose, auch wenn die Tumorzellen gut auf die Rezidivtherapie ansprachen. Die wenigen persistierenden, möglicherweise pathologischen Zellen nach der Transplantation führten hier zu einem massiven Rezidiv mit Therapieresistenz.

Zellen mit myeloischen Markern

Unter dem Rezidiv waren Zellen mit myeloischen Markern kaum nachweisbar. Nach der Rezidivtherapie stiegen sie an, am ehesten als Zeichen der Regeneration. Kurz vor der Transplantation sanken sie bei gleichzeitigem Anstieg der klonalen Zellen ab. Nach der Transplantation waren sie zunächst im Rahmen der Regeneration als erste Zellpopulation erhöht, fielen dann unter dem Rezidiv wieder ab. Der Anstieg nach der Transplantation

könnte eventuell auch, wie bereits mehrfach bei den vorherigen Patienten beschrieben, ein Prädiktor für den Wiederanstieg sein; hier war es aber wohl doch eher ein regenerativer Prozess.

CD 4/CD 8

Diese Marker wurden bei dem Patienten nicht bestimmt.

Zytologie

Zytologisch waren die Rezidive zwar zweifelsfrei zu erkennen; die in der Immunzytologie nachgewiesene Persistenz der Blasten war jedoch in der Zytologie nicht eindeutig zu erkennen.

3. Patienten mit pro-B-ALL

3.1 Patient 10, w, ED 06/02

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Dabei fand sich ein Anteil von fast 60% CD 19 positiven Zellen. Vor Beginn der Therapie stieg dieser Anteil noch weiter an. Auch die T-Zellen stiegen zu diesem Zeitpunkt an, lagen aber weit unter dem Normbereich. Dieser Anstieg könnte noch ein Zeichen der körpereigenen Abwehraktivität sein. Nach den ersten Therapiezyklen zeigte sich ein recht gutes Ansprechen auf die Therapie; die pathologischen Zellen sanken auf ca. 10% ab. Jetzt erst ließ sich auch eine Expression von CD 10 und CD 10/CD 19 in gleicher Höhe nachweisen, während CD 10 vorher nicht nachweisbar gewesen war. Es handelte sich also möglicherweise um einen Switch im Sinne einer weiteren Reifung des B-Zellklons. Mit dem Abfall der Tumorzellen ging ein starker Anstieg der T-Zellen, vor allem der CD 8 positiven Zellen einher, wohl eine regenerative Reaktion auf die Chemotherapie. Die pro-B-ALL wird von Beginn an nach dem Hochrisiko-Arm des ALL-Protokolls behandelt, dies schließt im optimalen Fall eine Transplantation ein, so auch bei dieser Patientin. Vor Beginn der Konditionierung für die allogene PBSZT war ein Wiederanstieg der pathologischen Zellen, einschließlich der Marker CD 10 und CD 10/CD 19, bei gleichzeitigem Abfall der T-Zellen zu beobachten. Nach der Transplantation ist nur noch einmal eine Untersuchung durchgeführt worden, die einen Abfall der erkrankten Zellen zeigte, welche aber trotzdem persistierten. Insgesamt sprachen die klonalen Zellen recht gut auf die initiale Therapie an; der Wiederanstieg vor und die Persistenz nach der Transplantation könnten die Prognose negativ beeinträchtigen. Definitive Aussagen dazu lassen sich jedoch nicht treffen, da keine weiteren Verlaufsdaten vorliegen.

Zellen mit myeloischen Markern

Die Marker wurden bei der Patientin nicht bestimmt.

CD 4/CD 8

Ab Beginn der Therapie war das Verhältnis invers mit stark erhöhten CD 8 positiven und erniedrigten CD 4 positiven Zellen.

Zytologie

Die Erstdiagnose wurde auf Grund einer massiven Infiltration durch Blasten festgestellt. Im weiteren Verlauf war trotz der Persistenz in der immunzytologischen Untersuchung zytologisch eine komplette Remission angegeben bzw. ein Wiederanstieg der Blasten in der Zytologie bei weiterem Absinken der pathologischen Zellen in der Immunzytologie und Regeneration der Granulopoese zu verzeichnen. Vor der Transplantation wurden nur gering erhöhte Blastenzahlen angegeben, die die immunzytologischen Ergebnisse nicht widerspiegeln. Nach der Transplantation war die Persistenz der erkrankten Zellen in der zytologischen Untersuchung nicht zu sehen.

3.2. Patient 11, w, ED 06/03

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Dabei waren fast alle Zellen CD 19 positiv und CD 34 positiv ; andere Zellen waren kaum nachweisbar. Auf die 1. Induktionstherapie sprachen die CD 34 positiven Zellen sehr gut an, die CD 19 positiven Zellen waren zuerst noch zu fast 20% nachweisbar. Wahrscheinlich handelte es sich dabei um CD 34 negative Zellen, es könnten jedoch auch regenerierende gesunde B-Zellen gewesen sein. Durch die 2. Induktion wurde dann auch der Rest der CD 19 positiven Zellen eliminiert. Die T-Zellen zeigten zu diesem Zeitpunkt eine gute Regeneration. Im weiteren Verlauf stiegen die CD 19 positiven Zellen wieder an; jetzt war zusätzlich auch, wie bei Patient 10, CD 10 nachweisbar. Durch die autologe PBSZT fielen die CD 10 positiven und CD 19 positiven Zellen ab, während gleichzeitig die CD 34 positiven Zellen weiter anstiegen. Möglicherweise handelte es sich dabei um gesunde, regenerierende Stammzellen. Nach der Transplantation erreichten CD 10 und CD 19 wieder höhere Werte, die dann auch auf dieser Höhe, ca. 30 %, verblieben. Zum Ende der Beobachtungszeit stiegen die CD 19 positiven noch weiter an; es könnten sowohl gesunde als auch pathologische, CD 10 negative B-Zellen sein. Insgesamt waren der Wiederanstieg vor und die hohe Persistenz nach der Transplantation wie auch schon bei Patient 10 zu beobachten. Auch hier sind keine eindeutigen Aussagen zum Verlauf zu treffen, da dieser nur über zehn Monate nach der Transplantation weiter beobachtet wurde.

Zellen mit myeloischen Markern

Der erste Anstieg der myeloischen Vorläuferzellen erfolgte unter der Therapie kurz vor dem Wiederanstieg der initial stark abgefallenen pathologischen Zellen. Im weiteren Verlauf konnte sowohl vor als auch nach der Transplantation ein wellenförmiges Ansteigen der myeloischen Zellen beobachtet werden. Dabei erfolgte ein Anstieg jeweils gemeinsam mit einem Abfall der pathologischen Zellen.

CD 4/CD 8

Zu Beginn war noch ein normales CD 4/CD 8- Verhältnis vorhanden, dann erfolgte auch bei diesem Patienten eine Umkehr dieses Verhältnisses, und blieb dann dauerhaft invers. Dabei lagen wiederum die CD 8 positiven Zellen im Normbereich oder leicht darüber bei dauerhaft erniedrigten CD 4 positiven Zellen.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte zu den meisten Untersuchungszeitpunkten vergleichbare Ergebnisse wie die Immunzytologie i. S. einer Blastenpersistenz, wich jedoch zahlenmäßig z. T. stark von den Zahlen der Immunzytologie ab.

3.3. Patient 12, w, ED 10/99

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zu Beginn des 1. Kurses der intensivierten Erhaltungstherapie. Zu diesem Zeitpunkt waren die pathologischen Zellen nur ganz gering nachzuweisen. Im weiteren Verlauf erfolgten nach Ende der Therapie ein kontinuierlicher Anstieg der CD 19 positiven Zellen und auch hier ein geringer Anstieg der CD10/CD 19 positiven Zellen, was jedoch nicht weiter therapiert wurde. Ob im weiteren Verlauf ein Rezidiv erfolgte, lässt sich nicht sagen, da keine weiteren Daten vorliegen.

Zellen mit myeloischen Markern

Diese wurden hier nicht bestimmt.

CD 4/CD 8

Obwohl hier nur wenige Daten vorliegen, ist ein inverses Verhältnis mit leicht erhöhten CD 8 positiven und leicht verringerten CD 4 positiven Zellen zu sehen.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung ergab zwar auch leichte Erhöhungen der Blasten, aber zahlenmäßig nicht der Immunzytologie entsprechend. Man konnte den kontinuierlichen Anstieg bis auf Werte über 30% nicht erkennen.

3.4. Patient 13, m, ED 10/01

Für diesen Patienten war kein Anfangsbefund verfügbar. Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte vor Beginn der Konditionierung für eine allogene PBSZT nach stattgehabtem Rezidiv. Zu diesem Zeitpunkt waren CD 19 positive, CD 34 positive und auch CD 10/CD 19 positive Zellen gering nachweisbar. Die T-Zellen lagen im Normbereich. Nach der Transplantation sank die Anzahl dieser Zellen weiter bis auf 0% ab. Stattdessen kam es nun zu einem massiven Anstieg von T-Zellen, die CD 8 positiv waren. Diese Zellen infiltrierten fast das gesamte Knochenmark. Am ehesten ist anzunehmen, dass es sich von Anfang an um ein T-Zell-Lymphom / -Leukämie gehandelt hatte, alternativ ist ein Switch zu einer klonalen T-Zellerkrankung anzunehmen. Der Patient wurde daraufhin zur palliativen Chemotherapie verlegt. Darüber liegen keine weiteren Daten vor.

Zellen mit myeloischen Markern

Aufgrund der wenigen Daten zu diesem Patienten lassen sich keine eindeutigen Aussagen dazu treffen, außer dass auch hier die myeloischen Zellen bereits vor der Transplantation erhöht waren. Der geringe Anstieg nach der Transplantation ist auch hier als beginnende Regeneration anzusehen.

CD 4/CD 8

Vor der Transplantation war ein inverses Verhältnis mit stark erhöhten CD 8 positiven und stark erniedrigten CD 4 positiven Zellen zu sehen. Nach der Transplantation kam es dann zu einer Blastenzunahme der Erkrankung mit stark erhöhten CD 8 positiven Zellen. Da bei fast allen bisher beschriebenen Verläufen ein inverses Verhältnis mit meist erhöhten CD 8 positiven Zellen vorlag, würde man hier davon ausgehen, dass das inverse Verhältnis vor der Transplantation die gleichen Ursachen wie bei den anderen Patienten hatte, jedoch lag möglicherweise bereits vor Transplantation ein T-Zell-Lymphom / -Leukämie vor.

Zytologie

Die Zytologie zeigte ähnliche Ergebnisse wie die Immunzytologie, auch das Rezidiv war eindeutig zu erkennen.

3.5. Patient 14, m, ED 06/03

Die erste immunzytologische Untersuchung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose zeigte eine fast 100%ige Infiltration des Knochenmarkes durch CD 19 positive Zellen, davon zeigten ca. 40% eine Koexpression von CD 34. Nach Beginn der Therapie war ein starker Abfall der malignen Zellen zu sehen; sie sprachen gut auf die Therapie an. Im weiteren Verlauf zeigt sich auch bei diesem Patienten vor der geplanten autologen PBSZT ein Wiederanstieg der pathologischen

Zellen sowie eine erstmalige Koexpression von CD 10. Auch nach der Transplantation war ein weiterer Anstieg dieser Zellen zu verzeichnen. Acht Monate nach der Transplantation war ein Abfall sowohl der CD 19 positiven als auch der CD 10 positiven Zellen erkennen, wobei CD 10 stärker abfiel, was auf eine Weiterreifung der B-Zellen hinweist. Zum Ende der Beobachtungszeit, 16 Monate nach der Transplantation, bewegten sich die CD 10 positiven Zellen noch immer um 10%, die CD 19 positiven Zellen stiegen leicht an auf etwas über 30%, d.h. es lag noch immer eine Persistenz von malignen Zellen vor. Die T-Zellen zeigten nur eine geringe Regeneration, möglicherweise durch die Persistenz i. S. einer Verdrängung, oder aber nur durch eine Verzögerung der Normalisierung nach der zytostatischen Therapie bedingt.

Zellen mit myeloischen Markern

Diese traten erstmals unter Therapie auf. Vor der Transplantation verliefen sie entgegengesetzt zu den malignen Zellen. Nach der Transplantation stiegen sie zusammen mit den pathologischen Zellen an, am ehesten im Rahmen der beginnenden Regeneration. Im weiteren Verlauf blieben sie erhöht, erst zum Ende der Beobachtungszeit sanken sie bei gleichzeitigem leichtem Anstieg der CD 19 positiven Zellen ab. Das wirft die Frage auf, ob es sich um maligne B-Zellen handelte, die weiter anstiegen und die anderen Zellen verdrängten oder ob es sich um eine Veränderung im Rahmen der Regeneration handelte.

CD 4/CD 8

Es war auch bei diesem Patienten ein inverses Verhältnis zu sehen, wobei die CD 8 positiven Zellen im Normbereich, die CD 4 positiven Zellen darunter lagen.

Zytologie

Die zytologischen Untersuchungsergebnisse zeigten nach Beginn der Therapie eine Blastenpersistenz, wie in der Immunzytologie, allerdings waren die Blastenzahlen in der Zytologie höher als in der Immunzytologie. Möglicherweise wurden auch die steigenden myeloischen Zellen als Blasten gesehen. Nach der Transplantation war nur eine zytologische Untersuchung verfügbar, die eine komplette Remission anzeigte, obwohl immunzytologisch weiterhin CD 10 als auch CD 19 mit erhöhten, also pathologischen Werten nachweisbar waren, demzufolge eine Persistenz vorlag.

4. Patienten mit prä-B-ALL

4.1. Patient 15, w, ED 05/00

Auch bei dieser Patientin lag kein interner Ausgangsbefund vor. Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte während des 2. Kurses der intensivierten Erhaltungstherapie. Zu

diesem Zeitpunkt waren keine malignen Zellen nachweisbar. Im weiteren Verlauf aber kam es zum Anstieg von CD 19 positiven und CD 10 positiven Zellen bei Abfall der T-Zellen. Erst nach dem 4. Kurs der intensivierten Erhaltungstherapie erfolgten ein Abfall der pathologischen Zellen und eine Regeneration der T-Zellen. Zu den nachfolgenden Untersuchungszeitpunkten, zu denen keine Therapie erfolgte, stiegen die pathologischen Zellen wieder mäßig an, fielen wieder ab und stiegen zum Ende der Beobachtungszeit wieder leicht an, sodass sich insgesamt ein wellenförmiger Verlauf ergibt. Die T-Zellen verliefen dabei gegenläufig zu den malignen Zellen. Insgesamt ließen sich im Verlauf der Untersuchung jederzeit Zellen des Klons nachweisen, wobei diese Zellen, im Gegensatz zum externen Ausgangsbefund, aufgrund der Präsenz von CD 10 eigentlich als c-ALL-typische Zellen zu bezeichnen wären. Die Expression von CD 10 ist dabei entweder erst im Verlauf der Therapie aufgetreten oder war von Beginn an vorhanden und wurde nicht festgestellt. Für die Therapie ergeben sich daraus aber keinerlei Konsequenzen.

Zellen mit myeloischen Markern

CD 33 war als myeloischer Marker von Beginn an nachweisbar. Auch hier lässt sich ein wellenförmiger Verlauf feststellen, meist gleichsinnig zu den pathologischen Zellen. Nach Beendigung der Therapie und Wiederanstieg der malignen Zellen kam es auch bei den myeloischen Zellen zu einem starken Anstieg, wobei zu dem Zeitpunkt des Maximums der myeloischen Zellen die pathologischen wieder abfielen. Nach dem Maximum fielen sie ab, um dann zum Ende der Beobachtungszeit wieder anzusteigen, gemeinsam mit den ebenfalls wieder leicht ansteigenden pathologischen Zellen. Auch sollte hier wieder in Betracht gezogen werden, ob die Zellen Vorläufer der malignen Zellen sind oder nur als Zeichen der Regeneration nach der zytostatischen Therapie zu werten sind.

CD 4/CD 8

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war bei dieser Patientin zeitweise invers, z. T. normal. Kurz nach Beendigung der Therapie stiegen beide Zellpopulationen stark an und erreichten die oberen Grenzen des Normbereichs, am ehesten als Ausdruck einer Regeneration nach erfolgter zytostatischer Therapie. Anschließend fielen beide Zellpopulationen wieder ab, wobei die CD 8 positiven Zellen annähernd Normwerte erreichten, während die CD 4 positiven Zellen stets unter dem Normbereich lagen, das Verhältnis aber nicht invers war.

Zytologie

Die zytologischen Untersuchungen zeigten erhöhte Blastenanteile ebenso wie die Immunzytologie, allerdings zahlenmäßig geringer. Teilweise wurden auch komplette Remissionen bei Persistenz in der Immunzytologie angegeben.

4.2 Patient 16, m, ED 06/00

Auch bei diesem Patienten lag kein interner Ausgangsbefund vor. Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte nach dem 4. Kurs der intensivierten Erhaltungstherapie. Zu diesem Zeitpunkt fanden sich keine malignen Zellen und gut regenerierte T-Zellen. Nach Beendigung der Therapie war ein Anstieg von CD 19 positiven und CD 10 positiven Zellen zu erkennen, wobei CD 19 höhere Werte erreichte. Diese Zellen könnten gesunde B-Zellen aber auch maligne CD 10 negative Zellen, also Zellen des ursprünglichen Klons, sein. Im weiteren Verlauf blieben die CD 19 positiven Zellen erhöht und verliefen wellenförmig, allerdings nur gering über dem Normbereich. Dabei könnte es sich wiederum um regenerierende B-Zellen, aber auch um Persistenz der klonalen Zellen handeln. Insgesamt sprechen die relativ konstanten Werte eher für eine Regeneration. Die T-Zellen zeigten ebenfalls einen wellenförmigen Verlauf und blieben unter dem Normbereich. Die CD 10 positiven Zellen fielen wieder ab und blieben dann auf niedrigem Niveau über die gesamte Zeit nachweisbar.

Zellen mit myeloischen Markern

Die myeloischen Marker waren auch bei diesem Patienten zu jedem Zeitpunkt der Beobachtungszeit nachweisbar. Dabei ist ein wellenförmiger Verlauf gegenläufig zu den pathologischen Zellen zu beobachten.

CD 4/CD 8

Bei diesem Patienten ist über den gesamten Verlauf ein inverses Verhältnis der beiden Zellpopulationen zu verfolgen; dabei lagen die CD 8 positiven Zellen im Normbereich, die CD 4 positiven Zellen darunter.

Zytologie

In den zytologischen Untersuchungen zeigte sich über einen langen Zeitraum eine komplette Remission, nur gegen Ende zeigten sich leicht erhöhte Blastenwerte. Auch in der Immunzytologie war von einer kompletten Remission auszugehen, wobei es sich bei den erhöhten B-Zellen auch um pathologische Zellen gehandelt haben könnte. Gegen Ende der Beobachtungszeit zeigte sich auch in der Immunzytologie ein erneuter Anstieg der CD 19 positiven Zellen, was der Blastenerhöhung in der Zytologie entsprechen könnte. Insgesamt zeigen beide Methoden ähnliche Ergebnisse.

5. Patienten mit biphänotypischer ALL

5.1. Patient 17, m, ED 12/03

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Hierbei zeigte sich eine fast 100%ige Infiltration des Knochenmarkes durch unreife biphänotypische Zellen, d.h. Positivität für CD 19, CD 19/34, CD 7 und CD 13 sowie in geringerem Maße für CD 33. Nach Beginn der Therapie konnte man einen Abfall der pathologischen Zellen beobachten; sie sprachen gut auf die Therapie an. Dies gilt besonders für die Marker CD 19 und CD 19/34, während die Zellen mit CD 13 etwas weniger gut reagierten. Möglicherweise sind die höheren Werte für CD 13 auch ein Zeichen der Regeneration nach dem ersten Therapiezyklus. Zum nächsten Untersuchungszeitpunkt wurde ein weiteres Absinken der malignen Zellen, einschließlich der CD 13 positiven, verzeichnet. Kurz darauf verstarb der Patient jedoch an einer respiratorischen Globalinsuffizienz.

Zellen mit myeloischen Markern

Der myeloische Marker CD 13 wurde, wie bereits besprochen, auf den malignen Zellen koexprimiert, CD 33 war nur einmal nachweisbar und fiel dann auf null Prozent ab.

CD 4/CD 8

Bei diesem Patienten war das Verhältnis annähernd normal. Die Werte für CD 4 lagen zwar unter dem Normbereich, aber die CD 8 positiven Zellen waren normal und insgesamt war das Verhältnis nicht invers.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte die anfängliche massive Infiltration des Knochenmarkes durch pathologische Zellen ebenfalls sehr deutlich. In den nachfolgenden Untersuchungen zeigte sich die Abnahme der erkrankten Zellen wie auch in der Immunzytologie. Insgesamt zeigten die zytologischen Ergebnisse ähnliche Ergebnisse wie die Immunzytologie.

5.2. Patient 18, w, ED 11/ 02 als c-ALL

Bei dieser Patientin wurde anfänglich die Diagnose einer c-ALL gestellt, welche dann einen Switch mit Markerwechsel hin zu einer biphänotypischen ALL aufwies.

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Dabei fand sich eine Infiltration des Knochenmarkes durch CD 10 positive und CD 19 positive Zellen. Dies rechtfertigt die Erstdiagnose einer c-ALL. Nach Beginn der Therapie fand sich ein starker Abfall der malignen Zellen, Zellen mit CD 10 waren nicht mehr nachweisbar. Im

weiteren Verlauf blieb CD 10 negativ bis zum Ende der Beobachtungszeit. Auch CD 19 blieb nach Beginn der Therapie in normalen Bereichen bzw. zeigte zeitweise noch einen geringen Abfall. Vor der Konsolidierung 1 kam es erstmalig zu einem Anstieg des myeloischen Markers CD 13 mit einem Abfall der T-Zellen. Zum nächsten Untersuchungszeitpunkt fand sich ein starker Anstieg reifer T-Zellen, zum größten Teil mit Expression von CD 8 sowie ein starker Anstieg von CD 7 bei gleichzeitiger Reduktion der CD 13 positiven Zellen. Dabei könnte es sich um eine vermehrte Regeneration nach der zytostatischen Therapie oder um eine körpereigene Reaktion von CD 8 positiven Zellen gegen die Tumorzellen handeln; auch ein Switch zu einer T-Zell-Erkrankung wurde diskutiert. Während einer Therapiepause zeigte sich dann ein starker Anstieg des myeloischen Markers CD 13 sowie des Stammzellmarkers CD 34 bei gleichzeitigem Abfall der reifen T-Zellen, jedoch mit weiter erhöhter Expression des T-Zell-Vorläufermarkers CD 7. Dies wurde als ein Rezidiv mit Markerwechsel gewertet und mittels AML-Rezidivtherapie mit Hochdosis-Cytosinarabinosid therapiert. Daraufhin zeigte sich nur ein geringes Ansprechen und ein rascher Wiederanstieg der CD 13 positiven und CD 34 positiven Zellen gemeinsam mit CD 7. Als Therapie der letzten Wahl wurde eine autologe Transplantation durchgeführt, die ebenfalls nur einen geringen Effekt mit darauf folgendem Wiederanstieg hatte. Die Patientin verstarb an ihrem Grundleiden.

Insgesamt lässt sich sagen, dass es sich zum Zeitpunkt der Erstdiagnose um eine c-ALL handelte und erst im Rezidiv ein Markerwechsel vorlag, wobei bei dem Rezidiv die ursprünglichen Marker nicht mehr nachweisbar waren und es sich damit nicht um eine biphänotypische ALL, sondern möglicherweise um eine biklonale Erkrankung handelte. Das Therapieansprechen des ersten Klons und die Regeneration des Knochenmarkes sind als gut zu bezeichnen. Es ließ sich zu diesem Zeitpunkt kein Hinweis auf ein drohendes Rezidiv finden, der myeloische Marker CD 13 stieg nicht langsam an, wie es bei anderen Patienten vor Rezidiven bzw. allgemein vor Anstiegen der malignen Zellen zu beobachten war, sondern sehr schnell. Das erklärt sich durch die Expression auf den pathologischen Zellen, die dann klonal expandierten, während bei den anderen Patienten die myeloischen Zellen nicht maligne zu sein schienen, sondern eher eine reaktive Veränderung darstellten.

Zellen mit myeloische Markern

Der myeloische Marker CD 33 war nicht auf den pathologischen Zellen exprimiert. Er verlief anfangs gemeinsam mit CD 13, wobei CD 13 z. T. erheblich höhere Werte aufwies, was zu diesem Zeitpunkt als reaktiv betrachtet werden kann. Im Rezidiv war CD 33 dann nicht nachweisbar, er stieg nach der Transplantation nochmals zu einem Zeitpunkt an, zu dem die

pathologischen Zellen eine Verringerung aufwiesen. Es handelt sich also am ehesten um eine regenerative Veränderung und nicht um eine Koexpression auf den klonalen Zellen.

CD 4/CD 8

Anfänglich war das Verhältnis noch normal, doch dann wurde auch bei dieser Patientin das Verhältnis invers. Dabei kam es, wie oben erwähnt, zu einem besonders starken Anstieg der CD 8 positiven Zellen, während die CD 4 positiven Zellen stets unter dem Normbereich lagen.

Zytologie

Das in der Immunzytologie sichtbare gute Ansprechen auf die Therapie mit kompletter Remission steht in der Zytologie einer Bewertung als Blastenpersistenz gegenüber. Über den gesamten Verlauf war zytologisch keine komplette Remission zu sehen, obwohl in der immunzytologischen Untersuchung die pathologischen Zellen nicht mehr nachweisbar waren. Möglicherweise handelte es sich bei den angegebenen Blastenzahlen zum Teil um die CD 7 positiven Zellen, die auch in der Immunzytologie hoch waren. Zum Zeitpunkt des ersten Rezidivs wurden in der Zytologie geringere Blastenzahlen angegeben als in der Immunzytologie sichtbar waren. Der zunehmende Anstieg der pathologischen Zellen war jedoch insgesamt auch in der Zytologie zu erkennen, wenn auch mit geringeren Zahlenangaben zu den blastären Zellen.

5.3. Patient 19, w, ED 11/02

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte im Rezidiv kurz vor Beginn der Konditionierung für eine allogene PBSZT. Im Gegensatz zu den vorhergehenden Patienten wurde diese Patientin nicht nach dem Hoelzer-Protokoll 6/99, sondern von Beginn an nach dem AML-Protokoll OSHO 02 therapiert. Vor der ersten immunzytologischen Untersuchung wurde das erste Rezidiv festgestellt und nach dem Mito-FLAG-Protokoll für AML therapiert. Zum Zeitpunkt dieser Untersuchung lag erneut eine nahezu vollständige Infiltration des Knochenmarkes durch pathologische Zellen vor. Diese Zellen wiesen als Markerprofil CD 19, CD 34 und CD 33 auf. Nach der Transplantation waren die malignen Zellen deutlich abgesunken, lagen aber trotzdem noch bei 20%. Am Tag 344 nach der Transplantation waren die pathologischen Zellen nur noch gering nachweisbar. Die T-Zellen zeigten eine Tendenz zur Regeneration. Insgesamt ist innerhalb des Beobachtungszeitraumes kein weiteres Rezidiv zu erkennen, aber die pathologischen Zellen persistierten auf einem niedrigen Niveau, was eventuell auch hier eine größere Anfälligkeit für ein erneutes Rezidiv andeutet, also streng

kontrolliert werden sollte, auch in Anbetracht der Tatsache, dass schon zwei Rezidive vorlagen.

Zellen mit myeloischen Markern

Der myeloische Marker CD 13 scheint nicht auf den pathologischen Zellen koexprimiert gewesen zu sein, war aber zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung bereits nachweisbar. Nach der Transplantation stieg er zunächst leicht an, um dann wieder abzusinken, wobei er aber nachweisbar blieb. Am ehesten handelt es sich bei diesem Verlauf um eine regenerative Reaktion.

CD 4/CD 8

Dazu gibt es bei dieser Patientin nur zwei Untersuchungswerte. Diese zeigen ein normales Verhältnis der Zellen zueinander, wobei sowohl die CD 4 positiven als auch die CD 8 positiven Zellen im Normbereich lagen.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte die massive Knochenmarkinfiltration zweifelsfrei. Im weiteren Verlauf gab die Zytologie jedoch eine komplette Remission an, obwohl immunzytologisch bis zu 20% der Zellen mit dem ursprünglichen pathologischen Markermuster nachweisbar waren.

6. Patient mit ED AML

6.1. Patient 20, w, ED 12/02

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte ein Jahr nach der Erstdiagnose kurz vor Beginn der Konditionierung für die allogene PBSZT. Zu diesem Zeitpunkt fanden sich erhöhte myeloische Marker sowie vereinzelt CD 10 positive Zellen. Nach der Transplantation fand sich anfangs ein ähnliches Bild. Jedoch am Tag 105 nach der Transplantation fand sich dann eine nahezu totale Infiltration des Knochenmarkes durch CD 10 positive und CD 19 positive Zellen, die z. T. noch CD 34 koexprimierten. Andere Zellen waren kaum noch nachweisbar. Da zum Zeitpunkt der Erstdiagnose differenzialdiagnostisch auch eine ALL in Betracht gezogen wurde, könnte es sich um ein Rezidiv gehandelt haben, alternativ kommt ein Markerwechsel zu einer c-ALL in Betracht. Aufgrund der kurzen Beobachtungszeit und fehlender immunzytologischer Untersuchungsergebnisse vor der Verlegung für die Transplantation lassen sich keine weiteren Aussagen treffen.

Zellen mit myeloischen Markern

Wie oben erwähnt, waren diese bei der ersten immunzytologischen Untersuchung nachweisbar. Ob es sich hierbei um persistierende maligne Zellen oder, wie bei den anderen Patienten, eher um regenerative Veränderungen handelte, ist nicht festzustellen. Inwieweit diese Zellen einen Einfluss auf das Rezidiv mit Markerwechsel nach der Transplantation hatten, ist schwer zu sagen. Falls es persistierende Tumorzellen waren, stellten sie möglicherweise einen Risikofaktor dar, falls es sich um nicht-klonale myeloische Zellen handelte, könnte auch nur eine regenerative Reaktion des Knochenmarkes vorhanden gewesen sein.

CD 4/CD 8

Das Verhältnis war zu jedem Beobachtungszeitpunkt invers, wobei beide Zellpopulationen unter dem Normbereich lagen.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte vor dem Rezidiv eine komplette Remission an. Falls es sich bei den myeloischen Zellen um maligne Zellen handelte, wurden sie hier nicht erkannt. Das Rezidiv war aber wieder zweifelsfrei zu erkennen.

7. Patient mit T-ALL

7.1. Patient 21, w, ED 11/01

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte vor Beginn der Konsolidierung 3. Zu diesem Zeitpunkt waren keine malignen Zellen nachweisbar; sowohl die Regeneration der B- als auch der T-Zellen verlief gut. Auch im weiteren Verlauf blieben die T-Zellen insgesamt im Normbereich mit Schwankungen unter der Therapie. Dabei blieben die CD 4 positiven Zellen meist im Normbereich oder leicht darunter. Die CD 8 positiven Zellen lagen ebenfalls meist im Rahmen der Normwerte, nur vereinzelt waren sie leicht erhöht. Dabei handelte es sich am ehesten um regenerative Veränderungen, da die Normwerte nur vereinzelt leicht überschritten wurden und die T-Zellen insgesamt stabil waren. Vereinzelt waren auch wenige CD 10 positive Zellen nachweisbar, was aber ebenfalls im Rahmen der Regeneration zu sehen ist. Die B-Zellen waren über den gesamten Verlauf leicht erniedrigt, sonst unauffällig.

Zellen mit myeloischen Markern

Die myeloischen Marker waren zu jedem Zeitpunkt nachweisbar und zeigten zu Beginn der intensivierten Erhaltungstherapie einen starken Anstieg. Im weiteren Verlauf sanken sie wieder ab und stiegen dann wieder an, sodass sich andeutungsweise ein wellenförmiger

Verlauf ergibt. Dabei verliefen sie gegenläufig zu den T-Zellen. Wie bei den B-Zell-Leukämien könnte eine Wechselwirkung zwischen diesen Zellpopulationen i. S. einer Konkurrenz bestehen. Da die T-Zellen aber nicht pathologisch zu sein scheinen, könnte es sich auch um regenerative Veränderungen im Rahmen der Therapie handeln.

CD 4/CD 8

Das Verhältnis war zeitweise invers, z. T. normal mit normalen CD 4- und CD 8-Werten; es ergab sich kein Hinweis auf Malignität.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung wie auch die Immunzytologie zeigten meist komplette Remissionen, nur vereinzelt wurden leicht erhöhte Blastenzahlen angegeben, die in der Immunzytologie allerdings keine Entsprechung finden.

8. Patient mit B-ALL

8.1. Patient 22, w, ED 09/01

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte fünf Monate nach Beendigung der Therapie. Zu diesem Zeitpunkt waren fast 30% CD 19 positive Zellen nachweisbar, wobei davon auszugehen ist, dass unter diesen Zellen auch pathologische waren, da der Normwert um fast das Doppelte überschritten wurde. Auch eine Erhöhung im Rahmen der Regeneration nach der zytostatischen Therapie wäre möglich; die Regeneration wäre in diesem Fall verzögert, da die Zellen über den gesamten Beobachtungszeitraum von 30 Monaten erhöht blieben. Während der Beobachtungszeit kam es zu einem wellenförmigen Verlauf dieser Zellen mit Höchstwerten von beinahe 40% und einer Verringerung zum Ende der Beobachtung. Dabei kam es zu einer zusätzlichen Expression von CD 10, wobei die CD 10 positiven Zellen geringere Werte erreichten als die CD 19 positiven Zellen und gemeinsam mit ihnen einen wellenförmigen Verlauf nahmen. Die CD 10 negativen B-Zellen könnten dabei sowohl gesunde Zellen als auch Zellen des ursprünglichen Klons darstellen. Die zusätzliche Expression von CD 10 ist dabei möglicherweise ein regenerativer Vorgang oder ein Switch zu einer c-ALL, welche typischerweise CD 10 exprimiert. Zum letzten Untersuchungszeitpunkt fielen sowohl die CD 19 positiven als auch die CD 10 positiven Zellen ab, was einer Besserung des Befundes entspricht und möglicherweise eine Normalisierung des Zellbildes nach lang andauernder Regeneration anzeigt. Die dauerhaft erhöhten pathologischen Zellen könnten als Risikofaktor für ein Rezidiv angesehen werden, was jedoch in der Beobachtungszeit nicht nachweisbar war.

Zellen mit myeloischen Markern

Diese wurden erst später im Verlauf bestimmt. Dabei ist auch bei diesen Zellen ein oszillierender Verlauf zu beobachten, und zwar entgegengesetzt zu den pathologischen und gemeinsam mit den T-Zellen. Es ist auch hier an eine gegenseitige Beeinflussung der myeloischen und pathologischen Zellen zu denken.

CD 4/CD 8

Das Verhältnis dieser Zellen zueinander war auch bei dieser Patientin über den gesamten Verlauf invers mit meist normalen CD 8 positiven und immer verringerten CD 4 positiven Zellen. Bei den CD 8 positiven Zellen ist bei gleichzeitigem Abfall der pathologischen Zellen ein einmaliger starker Anstieg zu verzeichnen; es könnte sich dabei um eine Abwehrreaktion des Körpers gegen die Tumorzellen durch die Steigerung der zytotoxischen CD 8 positiven Zellen handeln.

Zytologie

Die zytologische Untersuchung zeigte z. T. komplette Remissionen, z. T. gering erhöhte Blasten an. In der Immunzytologie hingegen waren zu jedem Zeitpunkt pathologische Zellen nachweisbar und dabei in höheren prozentualen Bereichen als in der Zytologie angegeben.

9. Patient mit unklarer Diagnose

9.1. Patient 23, w, ED 05/03

Die erste immunzytologische Untersuchung erfolgte zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Dabei zeigte sich das Bild eines follikulären Lymphoms, d.h. eine Expression von CD 19, CD 20 und dabei eine teilweise Expression von CD 23, CD 10 und CD 34. Daraufhin erfolgte noch keine Therapie. Zum nächsten Untersuchungszeitpunkt zeigte sich dann eine CD 23-Negativität bei Dominanz von CD 19 positiven und CD 10 positiven Zellen mit einer Koexpression von CD 34 und entsprach damit nun dem Befund einer c-ALL. Daraufhin wurde eine zytostatische Therapie begonnen, auf die die Erkrankung gut ansprach und woraufhin die malignen Zellen nicht mehr nachweisbar waren. Die Patientin verstarb kurz darauf an einer respiratorischen Globalinsuffizienz.

Zellen mit myeloischen Markern

Diese waren im gesamten Verlauf negativ.

CD 4/CD 8

Bei dieser Patientin war das Verhältnis über den gesamten Verlauf normal mit zum Ende der Beobachtung erhöhten CD 4 positiven Zellen.

Zytologie

Die Zytologie entsprach im gesamten Verlauf den immunzytologischen Ergebnissen, allerdings mit höheren Blastenzahlen als in der Immunzytologie.

Gesamtdiskussion

1. Vergleich der Patienten mit bcr-abl-positiver c-ALL

Bei allen drei Patienten mit bcr-abl-positiver ALL ließen sich immunzytologisch die malignen Zellen auch bei unauffälliger Zytologie nachweisen. Bei Patient 1 und Patient 3 ließen sie sich sogar über den gesamten Verlauf nachweisen; bei diesen Patienten kam es dann auch zu einem Rezidiv. Die ständige Persistenz der pathologischen Zellen ist wohl als ein Hinweis auf eine Imminenz eines Rezidivs zu sehen. Auch das mangelnde oder verzögerte Therapieansprechen bei diesen zwei Patienten könnte darauf hindeuten, wobei zu erwähnen ist, dass Patient 1 zum Zeitpunkt der Erstdiagnose laut immunzytologischem Befund an einer c-ALL mit Koexpression myeloischer Marker erkrankt war und daher möglicherweise bereits zu Anfang auf eine Therapie nach dem ALL-Protokoll besser angesprochen hätte.

Zu den myeloischen Markern lässt sich feststellen, dass sie bei allen drei Patienten permanent erhöht waren. Weitere Gemeinsamkeiten im Verlauf der myeloischen Marker lassen sich nicht feststellen. Bei Patient 1 war eine Koexpression von Anfang an bekannt, und auch nach der Transplantation war sie weiter nachweisbar, die myeloischen Marker wichen aber dann zeitweise von den Prozentzahlen der malignen Zellen ab, was auch regenerativ bedingt sein könnte.

Bei allen drei Patienten fand sich ein stets inverses CD 4/CD 8-Verhältnis mit über die Norm erhöhten CD 8-Werten und unter Normwert liegenden CD 4 positiven Zellen. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um eine Reaktion auf die zytostatische Therapie. Es könnte sich dabei auch um eine Steigerung der zytotoxischen CD 8 positiven Zellen als Abwehrreaktion gegen die Tumorzellen handeln.

Die Ergebnisse der zytologischen Untersuchung entsprachen teilweise nicht denen der Immunzytologie; es ist mehrfach zu erkennen, dass trotz immunzytologisch bestehender Residuen zytologisch eine komplette Remission vorlag. Im Rezidiv waren dann aber auch zytologisch die Blasten eindeutig erhöht.

2. Vergleich der Patienten mit bcr-abl-negativer c-ALL

Die charakteristischen Marker der pathologischen Zellen, CD 19 und CD 10, waren bei fast allen Patienten zu jedem Zeitpunkt im Verlauf der Erkrankung nachweisbar, wenn auch in unterschiedlicher Höhe. Teilweise war auch eine Dissoziation im Verlauf der Marker mit

höheren Werten für CD 19 als für CD 10, wie bei Tomova beschrieben (63), zu beobachten, was für eine Weiterreifung der B-Zellen sprechen könnte; es könnte sich demnach auch um klonale cALLA-negative B-Zellen handeln. Bei den beiden Patienten mit Rezidiv war schon vor eindeutiger zytologischer Feststellung des Rezidivs ein langsamer Wiederanstieg bzw. Persistenz der pathologischen Zellen in hohen Prozentbereichen zu erkennen. Auch bei den Patienten ohne manifestes Rezidiv waren über einen langen Zeitraum erhöhte pathologische Marker nachweisbar, allerdings nicht in gleicher Höhe wie bei den Rezidivpatienten. Daraus ergibt sich möglicherweise die Schlussfolgerung, dass mit zunehmendem Anstieg der pathologischen Marker über einen längeren Verlauf die Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv erhöht ist. Eine dichtere Kontrolle wäre hier indiziert.

Auch die myeloischen Zellen waren bei allen Patienten stets nachweisbar, auch hier in unterschiedlicher Höhe. Dabei kann beobachtet werden, dass bei den meisten Patienten die myeloischen Zellen entgegengesetzt zu den pathologischen Zellen verliefen. Es stellt sich die Frage, ob die myeloischen Zellen durch ihren Anstieg einen Wiederanstieg der erkrankten Zellen voraussagen. Scheinbar besteht in jedem Fall eine Wechselwirkung zwischen den myeloischen und den erkrankten Zellen. Die erhöhten Werte während und kurz nach der Therapie sind am ehesten als reaktiv anzusehen, aber bei vielen Patienten blieb die Erhöhung auch lange nach der Therapie noch bestehen. In diesem Fall könnte es sich auch um eine langanhaltende Nachwirkung der zytostatischen Therapie handeln. Bei den Patienten mit Rezidiv lässt sich keine Aussage zu der Bedeutung der myeloischen Zellen in Bezug auf das Rezidiv treffen, da bei Patient 9 vor dem ersten Rezidiv keine Aufzeichnungen vorliegen und vor dem zweiten Rezidiv eine Transplantation erfolgte, mit nachfolgender, am ehesten regenerativer Erhöhung der myeloischen Zellen. Bei Patient 7 lag von vornherein eine Koexpression der myeloischen Marker auf den pathologischen Zellen vor.

Das CD 4/CD 8-Verhältnis war bei allen Patienten invers, meist mit CD 8- Werten über und CD 4- Werten unter dem Normbereich. Dies ist einerseits möglicherweise eine Reaktion auf die medikamentöse Therapie, die das Immunsystem nachhaltig beeinträchtigt und zu veränderter Regeneration führt, auch lange nach Therapieende. Andererseits könnte es eine Art Abwehrreaktion des Körpers gegen die Tumorzellen darstellen, die mit einer Erhöhung der zytotoxischen CD 8 positiven Zellen einhergeht. Allerdings scheinen der Verlauf und die Inversivität der beiden Zellpopulationen keinen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung zu nehmen.

Zu den zytologischen Untersuchungen lässt sich sagen, dass zwar im Rezidiv Immunzytologie und Zytomorphologie zweifelsfrei übereinstimmen; im Verlauf der Erkrankung allerdings

entsprachen die Ergebnisse häufig nicht denen der Immunzytologie. Meist fand sich zytologisch eine komplette Remission bei eindeutiger Persistenz der pathologischen Zellen in der Immunzytologie. Insgesamt kann man mit der Immunzytologie den Verlauf der Entwicklung der erkrankten Zellen auch bei minimalen Veränderungen beobachten, die in der Zytologie (noch) nicht nachweisbar sind. Weiterhin sind die Begleitreaktionen der anderen Zellpopulationen besser zu verfolgen und machen eventuell bessere Voraussagen möglich.

Im Vergleich zu den Patienten mit bcr-abl-positiver ALL lässt sich feststellen, dass sich die Ergebnisse ähneln, sowohl im Bezug auf die pathologischen Zellen, die Rezidive bei Patienten mit Residuen im höherprozentigen Bereich als auch in Bezug auf die CD 4/CD 8-Inversivität und die zytologischen Untersuchungen. Die myeloischen Marker waren ebenfalls permanent erhöht. Weitere Aussagen lassen sich jedoch nicht treffen, da bei Patient 1 von Beginn an eine Koexpression vorlag und bei Patient 3 vor dem Rezidiv nur wenige Werte vorlagen und nach der dem Rezidiv folgenden Transplantation die Erhöhung am ehesten regenerativ ist. Bei Patient 2 verliefen die myeloischen Zellen zwar auch wellenförmig, scheinen aber keinen Bezug zu den pathologischen Zellen zu haben, die über den gesamten Verlauf nur gering nachweisbar waren; hier war der Verlauf am ehesten durch die Therapiezyklen bedingt.

3. Vergleich der Patienten mit pro-B-ALL

Die malignen Zellen waren bei allen Patienten der pro-B-ALL-Gruppe im Verlauf zu jedem Zeitpunkt nachweisbar, auch nach Therapieende bzw. nach Transplantation. Auffällig ist, dass bei allen Patienten unter der Therapie zusätzlich zu den B-Zell-Markern CD 10 auftrat und auch nach Beendigung der Therapie bzw. nach Transplantation persistierte. Ursächlich dafür könnte eine regenerative Reaktion des Knochenmarkes mit Bildung sehr unreifer Zellen oder eine therapiebedingte Koexpression dieses Markers sein, i. S. eines Switches zu einer c-ALL oder einer partiellen Reifung der B-Zellen. Nach der autologen Transplantation stiegen die malignen Zellen zunächst an und verblieben dann auf einem erhöhten Niveau bzw. sanken leicht ab. Dabei lagen bei Patient 14 die CD 10 positiven Zellen niedriger als bei Patient 11. Weiterhin fand man bei Patient 14 eine Dissoziation der CD 19 positiven Zellen von den CD 10 positiven Zellen, nicht aber bei Patient 11. Dies könnte auf eine bessere Regeneration und auf gesunde B-Zellen bei Patient 14 hindeuten, allerdings könnte es sich auch um pathologische B-Zellen i. S. der ursprünglich CD 10 negativen pro-B-ALL handeln. Die Persistenz der malignen Zellen bei diesen Patienten könnte aber auch auf ein mögliches

Rezidiv hinweisen oder zumindest auf eine höhere Anfälligkeit. Bei den Patienten nach allogener Transplantation lassen sich keine eindeutigen Vergleiche anstellen, da bei Patient 13 kurz nach der Transplantation ein Rezidiv mit einem Markerwechsel auftrat und bei Patient 10 nur ein Untersuchungsergebnis nach der Transplantation vorlag, bei dem insgesamt alle Zellen vermindert waren.

Die myeloischen Marker wurden nur bei drei der fünf Patienten bestimmt. Bei den Patienten 11 und 14, deren Verlauf von Anfang an zu verfolgen ist, ist zu beobachten, dass Zellen mit diesen Markern erst unter der Therapie auftraten. Bei allen drei Patienten waren die Marker dann zu jedem Zeitpunkt nachweisbar. Bei den Patienten 11 und 14 lässt sich dann ein mehr oder weniger ausgeprägter wellenförmiger Verlauf beobachten; bei Patient 13 ist aufgrund der wenigen Daten keine Aussage dazu zu treffen. Die myeloischen Marker verhielten sich dabei wie bei den Patienten der anderen Gruppen entgegengesetzt zu den malignen Zellen. Auch nach der Transplantation ist dies bei Persistenz der pathologischen Zellen zu beobachten.

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war bei allen Patienten invers mit normalen bis leicht erhöhten CD 8 positiven und erniedrigten CD 4 positiven Zellen, wie auch bei den Patienten der anderen Gruppen.

Die zytologischen Untersuchungsergebnisse waren bei diesen Patienten, wie auch bei den Patienten der anderen Gruppen, nicht immer stimmig mit den Ergebnissen der Immunzytologie. Dabei fanden sich z. T. erhöhte Blastenzahlen in der Zytologie bei niedrigeren Werten in der Immunzytologie oder vice versa. Bei der massiven Knochenmarkinfiltration durch maligne Zellen zu Beginn der Erkrankung bei Patient 11 und 14 und zum Zeitpunkt des Rezidivs bei Patient 13 waren Zytologie und Immunzytologie jedoch zweifelsfrei stimmig.

Im Vergleich zu den Patienten der zwei vorhergehenden Gruppen lassen sich, wie oben bereits erwähnt, Ähnlichkeiten bezüglich Persistenz der malignen Zellen, Verlauf der myeloischen Zellen, CD 4/CD 8- Verhältnis und zytologischen Ergebnissen feststellen.

4. Vergleich der Patienten mit prä-B-ALL

Bei beiden Patienten lag kein immunzytologischer Ausgangsbefund vor. Es fällt aber auf, dass die als CD 10 negativ definierte prä-B-ALL im Verlauf eine Koexpression dieses Markers aufwies. Dies war auch schon bei den pro-B-ALL-Patienten aufgefallen. Hier stellt sich die Frage, ob es sich um eine reaktive Veränderung oder um einen Markerwechsel der pathologischen Zellen im Sinne einer Weiterreifung handelte. Bei Patient 16 fielen die CD 10

positiven Zellen wieder ab und waren nur noch gering nachweisbar, während bei Patient 15 der Marker über die gesamte Zeit den gleichen Verlauf nahm wie die CD 19 positiven Zellen. Möglicherweise ist dies ein Faktor, der die Erkrankung im weiteren Verlauf mitbestimmt i. S. einer mit ständiger Persistenz von CD 10 der unreifen Zellen erhöhten Gefahr eines Rezidivs. Da bei beiden Patienten im gesamten Verlauf kein Rezidiv vorlag, lässt sich dazu keine Aussage treffen, der Verlauf sollte dennoch weiter überwacht werden, da erhöhtes CD 10 als pathologischer Marker aufzufassen ist. Weiter ist bei Patient 15 ein Spitzenwert der pathologischen Zellen von über 50% zu finden, bei Patient 16 dagegen konstante Werte um 20%. Inwieweit das relevant ist, sollte im weiteren Verlauf beobachtet werden.

Die myeloischen Marker wiesen auch bei diesen Patienten einen wellenförmigen Verlauf auf, einmal gemeinsam mit dem Klon, einmal entgegengesetzt. Wie bereits erwähnt, stellt sich wieder die Frage nach der Zunahme myeloischer Zellen im Rahmen einer natürlichen Regeneration, aber auch als Vorläuferzellen für einen Wiederanstieg der malignen Zellen.

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war hier bei einem Patienten normal, bei dem anderen invers. Die möglichen Ursachen für ein inverses Verhältnis wurden bereits bei den vorherigen Patienten, von denen ein Großteil diese Konstellation aufweist, erläutert. Dass bei einigen Patienten das Verhältnis nicht invers war, z. T. mit normalen Werten für beide Zellpopulationen trotz ähnlicher Therapien, könnte auf eine andersartige Reaktion des Immunsystems auf die Medikamente oder auf eine andersartige (bessere ?) Regeneration zurückzuführen sein.

Die Ergebnisse der zytologischen Untersuchungen waren wie bei den vorherigen Patienten teilweise gleichsinnig zu denen der Immunzytologie, wenn auch mit geringeren prozentualen Blastenanteilen, z. T. wurde zytologisch eine Remission bei Persistenz der pathologischen Zellen in der Immunzytologie angegeben.

Insgesamt lassen sich sowohl zur Persistenz der malignen Zellen als auch dem Verlauf der myeloischen Zellen, dem CD 4/CD 8- Verhältnis und zu den Ergebnissen der zytologischen Ergebnisse ähnliche Aussagen treffen wie bei den vorherigen Patientengruppen.

5. Vergleich der Patienten mit biphänotypischer ALL

Auch bei diesen Patienten waren die pathologischen Zellen zu jedem Zeitpunkt nachweisbar, v. a. bei den Patienten 17 und 19, wobei die Persistenz der malignen Zellen möglicherweise Basis für ein Rezidiv im weiteren Verlauf sein könnte. Der Beobachtungszeitraum dieser beiden Patienten war sehr kurz, weshalb sich keine weiteren Aussagen treffen lassen. Bei Patient 18 hat der Klon so gut auf die Therapie angesprochen, dass die ursprünglichen Marker

nicht oder nur noch gering nachweisbar waren. Außerdem ist bei diesem Patienten möglicherweise die Diagnose der biphänotypischen Leukämie nicht korrekt, sondern es handelt sich dabei eher um eine c-ALL mit einem Switch zu einer biklonalen Leukämie.

Bei den Patienten 18 und 19 ist der myeloische Marker, der nicht auf den malignen Zellen exprimiert war, unauffällig (bei Patient 18 CD 33, bei Patient 19 CD 13); nach der Transplantation stieg er jeweils kurz im Rahmen einer Regeneration an. Bei Patient 17 waren beide myeloischen Marker auf den pathologischen Zellen vorhanden, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß, weshalb sich hier keine Aussagen zur Regeneration treffen lassen.

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war hier nur bei einem Patienten invers, dabei mit stark erhöhten CD 8-Werten. Dies könnte als eine Reaktion des Körpers gegen die malignen Zellen mittels der zytotoxischen T-Zellen gewertet werden. Bei den anderen beiden Patienten war das Verhältnis nicht invers; nur teilweise lagen die CD 4 positiven Zellen unter dem Normbereich, obwohl beide eine zytostatische Therapie erhielten, wie auch alle anderen bisher betrachteten Patienten, welche alle ein inverses Verhältnis aufwiesen. Möglicherweise reagiert das Immunsystem bei dieser Form der Erkrankung anders.

Zu den zytologischen Untersuchungen kann man sagen, dass auch hier die Ergebnisse nur teilweise mit den Ergebnissen der Immunzytologie übereinstimmten.

Im Vergleich zu den vorhergehenden Gruppen lassen sich Ähnlichkeiten in Bezug auf die Persistenz des Klon und die zytologische Untersuchung feststellen. Bei den myeloischen Markern lassen sich keine direkten Vergleiche ziehen, da bei zwei der drei Patienten die myeloischen Marker auf den pathologischen Zellen koexprimiert waren und bei dem dritten Patienten im Rezidiv ein Markerwechsel stattfand. Bei dem CD 4/CD 8- Verhältnis lassen sich ebenfalls Abweichungen von den anderen Patienten feststellen; bei zwei der drei Patienten lag kein inverses Verhältnis vor.

6. Vergleich der Patienten mit ED AML

Im Vergleich zu den vorherigen Patienten lassen sich auch bei dieser Patientin ähnliche Aussagen zum CD 4/CD 8- Verhältnis und zu den zytologischen Untersuchungen treffen. Zum malignen Klon und dessen Beziehung zu den myeloischen Zellen lassen sich keine Aussagen treffen, da nicht eindeutig klar ist, welche Zellen maligne und welche reaktiv waren (entsprechende Vorbefunde fehlen).

7. Vergleich der Patienten mit T-ALL

Es gibt zu dieser Patientin keine direkte Vergleichsmöglichkeit, da sie die einzige Patientin mit einer T-ALL ist, welche eine seltene Form der ALL darstellt. Im Vergleich zu den bisher betrachteten Patienten lässt sich nur die Gemeinsamkeit der ständigen Persistenz der myeloischen Zellen mit einem wellenförmigen Verlauf feststellen. Da die T-Zellen nicht pathologisch zu sein scheinen, sind sie am ehesten reaktiv bei zytostatischer Therapie.

Im Gegensatz zu den anderen Patienten findet sich hier fast durchgehend ein normales CD 4/CD 8- Verhältnis mit Zellen im Normbereich. Da die T-Zellen hier den Ursprung des malignen Tumors darstellen, lässt sich kein direkter Vergleich mit den anderen Patienten anstellen. Das normale CD 4/CD 8- Verhältnis könnte als positiver Prognosefaktor gewertet werden.

8. Vergleich der Patienten mit B-ALL

Zu dieser Patientin gibt es keine direkte Vergleichsmöglichkeit, da sie die einzige Patientin mit einer B-ALL ist. Auch bei dieser Patientin war, wie bei vielen der vorangegangenen Patienten, zu jedem Zeitpunkt eine Persistenz von malignen Zellen nachweisbar. Auffällig ist, dass auch hier, bei der eigentlich CD 10 negativen B-ALL, wie auch bei den Patienten mit einer pro-B- oder prä-B-ALL im Verlauf eine Koexpression von CD 10 auftrat. Dabei könnte es sich um regenerative Veränderungen handeln oder aber, da CD 10 eigentlich einen pathologischen Marker darstellt, um eine Rückentwicklung zu einer c-ALL. Ob dadurch ein Rezidiv begünstigt wird, ist nicht auszuschließen, aber eine definitive Aussage kann nicht getroffen werden, da im Beobachtungszeitraum kein Rezidiv auftrat.

Die myeloischen Zellen verliefen auch hier wie bei vielen der vorangegangenen Patienten wellenförmig entgegengesetzt zu den pathologischen Zellen.

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war ebenfalls wie bei fast allen Patienten invers mit einem einmaligen starken Anstieg und sonst im Normbereich liegenden CD 8 positiven und verringerten CD 4 positiven Zellen.

Auch zur zytologischen Untersuchung lassen sich ähnliche Aussagen wie bei den anderen Patienten i. S. eines häufigen Abweichens von den immunzytologischen Untersuchungen treffen.

9. Vergleich der Patienten mit unklarer Diagnose

Diese Patientin ist ein Beispiel für die teilweise schwierige Diagnosestellung. Aufgrund der kurzen Beobachtungszeit lassen sich keine aussagekräftigen Feststellungen treffen. Am ehesten handelt es sich dabei um einen leukämischen Verlauf eines follikulären Lymphoms, es könnte aber auch ein Switch zu einer c-ALL vorliegen.

Ein Vergleich mit den vorangegangenen Patienten ist schwierig. Es lässt sich feststellen, dass hier die myeloischen Marker negativ blieben und das CD 4/CD 8- Verhältnis normal war mit einmalig erhöhten CD 4 positiven Zellen, was bei keinem der anderen Patienten vorlag. Die Ursache hierfür könnten der andere Typ der Grunderkrankung und die andere Therapie mit entsprechend andersartiger Reaktion des Immunsystems sein. Die zytologischen Untersuchungsergebnisse zeigten die Infiltration bzw. das gute Ansprechen auf die Therapie ebenso wie die Immunzytologie an.

10. Vergleich der Patienten mit PBSZT

10.1. Patienten mit allogener PBSZT

Eine allogene PBSZT erhielten folgende sieben Patienten: 1 (nach fehlendem Ansprechen auf initiale Therapie und nachfolgender Rezidivtherapie bei c-ALL, bcr-abl-positiv), 3 (nach erstem Rezidiv bei c-ALL, bcr-abl-positiv), 9 (nach erstem Rezidiv bei c-ALL), 10 (bei pro-B-ALL), 13 (nach erstem Rezidiv bei pro-B-ALL), 19 (nach erstem Rezidiv bei biphänotypischer ALL), 20 (bei AML). Die Patienten wurden im Einzelnen oben besprochen. Von diesen Patienten erlitten vier ein Rezidiv nach der Transplantation: 1, 9, 13, 20. Bei diesen Patienten ist festzustellen, dass entweder ein mangelndes Therapieansprechen (1), eine Persistenz der pathologischen Zellen (20, fraglich, ob es sich dabei wirklich um pathologische Zellen handelte, siehe oben), oder ein stattgehabtes Rezidiv vor der Transplantation vorlag (13, 9). Bei allen Patienten konnten die pathologischen Zellen also trotz der Therapie persistieren. Bei den Patienten 1 und 9 blieb das ursprüngliche Markermuster erhalten, bei den Patienten 13 und 20 kam es zu einem Markerwechsel, wobei bei Patient 20 die Frage einer anfänglichen Fehldiagnose besteht (von Beginn an c-ALL, nicht AML). Bei allen Patienten waren die pathologischen Zellen einen Monat nach der Transplantation abgesunken. Das Rezidiv trat dann bei allen nach rund 100 Tagen auf.

Die myeloischen Zellen stiegen bei den Patienten 1, 9 und 13 nach der Transplantation an, am ehesten regenerativ, wobei bei Patient 1 von Beginn an eine Koexpression vorlag und daher auch nach der Transplantation diese Zellen pathologisch gewesen sein könnten. Aufgrund der Abweichung von den anderen pathologischen Markern würde der Anstieg aber auch hier eher für eine Regeneration sprechen. Bei Patient 20 sanken die myeloischen Zellen nach der Transplantation leicht ab, was für die Erstdiagnose einer AML oder zumindest für eine Koexpression auf den malignen Zellen sprechen könnte, da auch die anderen pathologischen Marker abfielen und keine Regeneration anhand der myeloischen Zellen erkennbar ist.

30 Tage nach der Transplantation waren die T-Zellen bei Patient 1, 9 und 13 vermindert. Bei Patient 1 folgte dann ein Anstieg (noch vor Absetzen der Immunsuppression). Bei Patient 13 kam es zu einem Markerwechsel hin zu T-Zellen, bei Patient 9 sanken sie bei Verdrängung durch die malignen Zellen ab. Bei Patient 20 zeigten die T-Zellen nach 30 Tagen bereits eine beginnende Regeneration, sanken dann jedoch durch Verdrängung durch die malignen Zellen wieder ab.

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war bei allen Patienten mit einem Rezidiv sowohl vor als auch nach der Transplantation invers. Dabei ist bei Patient 13, der ein Rezidiv mit einem Markerwechsel zu T-Zellen erlitt, vor der Transplantation ein über den Normbereich erhöhter Wert für CD 8 zu sehen. Möglicherweise handelte es sich dabei bereits um pathologische Zellen, die ein Rezidiv andeuten. Aber auch bei Patient 1 ist eine einmalige Erhöhung der CD 8 positiven Zellen vor der Transplantation über den Normbereich zu erkennen, die aber kein Rezidiv mit Markerwechsel zur Folge hatte. Dabei zeigten die CD 8 positiven Zellen jedoch, wie oben bereits erwähnt, auch nach der Transplantation nach anfänglicher Verminderung einen erneuten Anstieg. Eventuell weist diese Tatsache auf eine beginnende Regeneration oder aber auf eine erhöhte Abwehr gegen therapieresistente Tumorzellen durch zytotoxische CD 8 positive Zellen hin.

Die Zytologie zeigte bei allen vier Patienten nach der Transplantation eine komplette Remission an, wobei die pathologischen Zellen immunzytologisch nachweisbar blieben. Die Diagnose des Rezidivs wurde aber meist erst auf Grund der Zytologie gestellt.

Im Vergleich dazu zeigten die drei Patienten ohne Rezidiv nach der Transplantation (3, 10, 19) vor dieser ebenfalls eine Persistenz und danach einen Abfall der pathologischen Zellen. Bei den Patienten 3 und 19 lag vor der Transplantation ein Rezidiv vor.

Die myeloischen Marker wurden nur bei den Patienten 3 und 19 bestimmt; hierbei zeigte sich nach der Transplantation ebenfalls ein Anstieg als Zeichen der Regeneration (CD 33 war bei

Patient 19 auf den pathologischen Zellen koexprimiert und fiel nach der Transplantation mit ab).

Das CD 4/CD 8- Verhältnis wurde bei Patient 19 vor der Transplantation nicht bestimmt, nach der Transplantation war es normal. Bei den Patienten 3 und 10 war das Verhältnis vor der Transplantation invers. Dabei zeigte sich eine Erhöhung der CD 8 positiven Zellen über den Normbereich. Nach der Transplantation waren bei Patient 10 beide Zellpopulationen vermindert, das Verhältnis jedoch nicht invers. Bei Patient 3 blieb das Verhältnis nach der Transplantation invers mit normalen CD 8 positiven und verminderten CD 4 positiven Werten. Inwieweit die CD 8- Erhöhung bei beiden Patienten einen Einfluss auf ein mögliches Rezidiv hatte, lässt sich hier nicht sagen, da nach der Transplantation jeweils nur ein Untersuchungsergebnis vorliegt.

Insgesamt lassen sich im Vergleich der Patienten mit allogener Transplantation folgende Feststellungen treffen: die Verläufe der Patienten mit Rezidiv unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der Patienten ohne Rezidiv. Ein vorangegangenes Rezidiv vor der Transplantation ist sicher ein Risikofaktor für ein erneutes Rezidiv, dieses tritt aber nicht zwangsläufig ein (anhaltende komplette Remission bei Patient 19 nach 344 Tagen). Es lässt sich kein eindeutiger Hinweis auf ein drohendes Rezidiv feststellen.

10.2. Patienten mit autologer PBSZT

Eine autologe Transplantation erhielten die drei folgenden Patienten: 11 (bei pro-B-ALL), 14 (bei pro-B-ALL), 18 (nach erstem Rezidiv bei biphänotypischer ALL, ED c-ALL). Die Patienten wurden oben schon im Einzelnen besprochen.

Bei Patient 18 wurde die Transplantation als Therapie der letzten Wahl nach einem Rezidiv mit Markerwechsel und erfolgloser Rezidivtherapie durchgeführt. Kurz nach der Transplantation verstarb die Patientin, die Transplantation hatte also keinen Einfluss auf den letalen Ausgang der Erkrankung.

Die Patienten 11 und 14 konnten über den gesamten Verlauf der Erkrankung beobachtet werden. Beide litten an einer pro-B-ALL und hatten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ähnliche Ausgangswerte; beide wiesen eine fast vollständige Infiltration des Knochenmarkes durch CD 19 positive Zellen mit Koexpression von CD 34 auf. Beide sprachen initial gut auf die Therapie mit starkem Abfall der malignen Zellen an. Im weiteren Verlauf waren bei beiden Patienten ein erneuter Anstieg der pathologischen Zellen vor der Transplantation sowie eine neu auftretende Koexpression von CD 10 zu sehen. Nach der Transplantation ist ebenfalls bei beiden Patienten ein erneuter Anstieg von CD 19 und CD 10 zu erkennen. Bei Patient 11

blieben beide Marker im weiteren Verlauf erhöht, während bei Patient 14 ein Absinken von CD 10 bei weiterhin erhöhten CD 19 Werten erkennbar ist. Da bei beiden Patienten im Beobachtungszeitraum kein Rezidiv auftrat, kann man über die möglichen Auswirkungen nur spekulieren. Eventuell stellt die Persistenz beider Marker ein höheres Risiko für ein Rezidiv dar, da CD 10 ein Marker ist, der nur auf sehr wenigen normalen Zellen exprimiert ist und bei erhöhten Werten immer kritisch betrachtet werden sollte. Andererseits zeigt die Negativität für CD 10 nicht zwingend eine Normalisierung der B-Zellen an; da CD 19 bei Patient 14 trotzdem über dem Normbereich lag, könnte es sich um Zellen der ursprünglichen pro-B-ALL handeln und könnte somit ebenso ein Risiko für ein Rezidiv darstellen. Insgesamt sollten die erhöhten CD 19 positiven Zellen kritisch betrachtet werden, ob mit oder ohne CD 10.

Die myeloischen Marker waren bei beiden Patienten bereits vor der Transplantation erhöht vorhanden. Bei Patient 11 zeigten sich dabei höhere Werte und stärkere Schwankungen. Nach der Transplantation fielen die myeloischen Zellen bei Patient 11 stark ab (bei gleichzeitigem Wiederanstieg der pathologischen Zellen), bei Patient 14 stiegen sie nur leicht an (ebenfalls bei gleichzeitigem Wiederanstieg der pathologischen Zellen). Im weiteren Verlauf stiegen die myeloischen Zellen bei Patient 11 leicht an, um dann gegen Ende der Beobachtungszeit wieder leicht abzufallen; bei Patient 14 blieben sie zunächst gleich und fielen zum Ende hin ebenfalls ab. Es zeigt sich damit bei beiden Patienten ein annähernd wellenförmiger Verlauf entgegengesetzt zu den pathologischen Zellen.

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war bei beiden Patienten zunächst normal und nach der Transplantation invers. Ursächlich dafür kommen unterschiedliche Regenerationsfähigkeiten der beiden Populationen in Betracht; weiterhin könnten die CD 8 positiven Zellen im Rahmen der körpereigenen Abwehr erhöht sein. Bei beiden Patienten wurden dabei zu keinem Zeitpunkt Werte über dem Normbereich erreicht.

Insgesamt zeigen beide Patienten einen ähnlichen Verlauf; es traten keine Rezidive auf. Als mögliche Risikofaktoren für ein Rezidiv sollten die erhöhten CD 19 und CD 10 Werte weiter beobachtet und in Betracht gezogen werden. Auch der gegenläufige Verlauf der myeloischen zu den pathologischen Zellen sollte i. S. einer Konkurrenz beider Populationen beachtet werden.

10.3. Vergleich allogene – autologe PBSZT

Im Vergleich der Patienten mit allogener und autologer PBSZT lassen sich einige Gemeinsamkeiten feststellen: Wiederanstieg bzw. persistierend erhöhte Werte der pathologischen Zellen, (regenerativer) Anstieg der myeloischen Zellen nach der

Transplantation, aber auch teilweise Abfall der myeloischen Zellen nach der Transplantation (verzögerte Regeneration?), inverse CD 4/CD 8- Verhältnisse (unterschiedliche Regenerationszeiten der beiden Populationen, Abwehr der Tumorzellen durch erhöhte CD 8 positive Zellen, Förderung oder Ankündigung eines Wiederanstiegs der pathologischen Zellen).

In beiden Gruppen waren Patienten der Hochrisikogruppe (nach Stratifikation der Risikofaktoren) vertreten. Das häufigere Auftreten der Rezidive nach allogener Transplantation ist hier vermutlich durch die primär schlechtere Prognose in der allogenen transplantierten Gruppe bedingt und aufgrund der unterschiedlichen Patientenzahlen nicht aussagekräftig, des Weiteren kein Bestandteil der Fragestellung dieser Arbeit. Die Rezidive waren sowohl zytologisch als auch immunzytologisch eindeutig erkennbar, es lassen sich jedoch keine eindeutigen Aussagen zur Vorhersehbarkeit durch die immunzytologische Untersuchung treffen; es konnten nur vereinzelt Theorien aufgestellt werden.

11. Vergleich der Patienten mit Rezidiv

Folgende sieben Patienten erlitten ein Rezidiv: 1 (kein Rezidiv i. e. S.; mangelndes Ansprechen auf initiale Therapie), 3, 7, 9, 18 (Rezidiv zwar bekannt, aber keine Untersuchungsergebnisse zum vorhergehenden Verlauf, daher keine Aussage möglich), 13, 20 (beide nach Transplantation; Besprechung siehe oben).

Bei Patient 3 zeigte sich vor dem Rezidiv ein kurzer Anstieg der malignen Zellen, was wiederum das Rezidiv voraussagen könnte. Weiterhin findet sich auch hier eine Erhöhung der CD 8 positiven Zellen über den Normbereich (wie bei Patient 18, siehe dort). Die myeloischen Zellen waren vor dem Rezidiv zwar nachweisbar, aber nicht auffällig erhöht.

Bei Patient 7 wurde initial eine c-ALL diagnostiziert und entsprechend therapiert. Der von Beginn an koexprimierte myeloische Marker CD33 (was eine biphenotypische Leukämie wahrscheinlicher macht) sprach auf die Therapie nicht so gut an wie die CD 10 positiven und CD 19 positiven Zellen. Die Persistenz dieses Markers könnte ein Rezidiv vorhersagen. Zu Beginn des Rezidivs ergab sich nochmals eine Dissoziation von CD 19 und CD 33; diese verliefen dann aber mit den ursprünglich exprimierten Markern.

Bei Patient 18 erfolgte ein Rezidiv mit Markerwechsel. Vor dem Rezidiv waren die Zellen des ursprünglichen malignen Klons nicht mehr nachweisbar. Auffällig ist nur die Erhöhung der unreifen T-Zellen, zum größten Teil mit Koexpression von CD 8. Wie bereits erläutert, könnte dies auf das drohende Rezidiv i. S. einer gesteigerten Regeneration zur Abwehr von

persistierenden oder neu entstehenden Tumorzellen hindeuten. Die myeloischen Zellen zeigten vor dem Rezidiv keine Auffälligkeiten bis auf geringe Erhöhungen, welche am ehesten regenerativ bedingt waren. Diese Zellen stiegen dann sehr rasch an, sodass sich vorher keinerlei Hinweis auf ein drohendes Rezidiv ergab.

Bei Patient 13, bei dem keine Daten zur Erstdiagnose vorlagen, trat nach der Transplantation ein Rezidiv von Zellen einer CD 8 positiven T-ALL ein. Möglicherweise war daher die Erstdiagnose falsch oder es ist ein Markerswitch aufgetreten, somit waren die Werte bezüglich einer Voraussage eines Rezidivs kaum auswertbar.

Bei Patient 20 trat das Rezidiv bereits innerhalb der folgenden drei Monate nach der allogenen Transplantation auf. Gemessen wurde nur das initiale Ansprechen auf die Therapie. Die Untersuchungszeitpunkte für ein rechtzeitiges Erkennen eines Rezidivs lagen damit zu weit auseinander.

Zusammenfassend kann man sagen, dass bei fast allen Patienten mit Rezidiv vor diesem eine Persistenz der malignen Zellen nachzuweisen war. Man kann also davon ausgehen, dass diese Persistenz einem Rezidiv voraus geht. Allerdings lässt sich durch den dauerhaften Nachweis der pathologischen Zellen der Zeitpunkt eines Rezidivs nicht vorhersagen; da auch bei vielen Patienten ohne ein nachgewiesenes Rezidiv die pathologischen Zellen nachweisbar blieben. Auffallend war der häufige Markerwechsel auf den malignen Zellen, so dass der Klon schwer fassbar war. Oft wurden auch die Bestimmungen für die schnelle Entwicklung dieser Rezidive offenbar zu selten durchgeführt, sodass das drohende Rezidiv nicht erfasst werden konnte. Vereinzelt ist vor Rezidiven eine starke Erhöhung von CD 8 positiven Zellen zu beobachten (Patient 1, 3, 18). Wie bereits diskutiert, könnte das ein Ausdruck einer gesteigerten Abwehrreaktion gegen die Tumorzellen darstellen und somit eine erneut beginnende Vermehrung dieser Zellen anzeigen. Allerdings wurden ebenfalls bei Patienten ohne Rezidiv oft erhöhte CD 8-Werte gefunden, wobei aber betont werden muss, dass die CD 8-Werte bei den Patienten mit Rezidiv erheblich höher sind (50- 60% CD 8-positive Zellen). Der Zeitpunkt der Erhöhung vor dem Rezidiv ist bei den Patienten unterschiedlich: Bei Patient 18 finden sich über zwei Untersuchungszeitpunkte, einer davon unmittelbar vor dem Rezidiv, erhöhte Werte; bei Patient 1 waren die CD 8 positiven Zellen einmal bereits vor der Transplantation und dann nach der Transplantation, und zwar ebenfalls unmittelbar vor dem Rezidiv, erhöht und bei Patient 3 findet sich die maximale Erhöhung relativ lange vor dem Rezidiv, unmittelbar vorher waren die CD 8-Werte jedoch auch wieder relativ hoch. Man könnte die CD 8 positiven Zellen also durchaus bei Werten von 50% und mehr als Prädiktoren in Betracht ziehen. Die myeloischen Marker erweisen sich bei den Patienten mit

einem Rezidiv nicht als prädiktiv. Zwar findet sich im allgemeinen bei Betrachtung aller Patienten, auch ohne Rezidiv, mehrfach ein Anstieg der myeloischen Zellen kurz bevor die pathologischen Zellen wieder anstiegen; speziell bei den Patienten mit einem Rezidiv lassen sie jedoch keine Aussage zu, da sie sich unauffällig verhielten, also keine massiven Anstiege bzw. insgesamt Veränderungen im Verhalten erkennbar sind. Außerdem erlitten vier der sieben Patienten das Rezidiv nach einer Transplantation, nach der die myeloischen Zellen i. d. R. als Zeichen der Regeneration erhöht sind; weiterhin war bei zwei Patienten eine biphänotypische Leukämie diagnostiziert worden, bei der die myeloischen Marker auf den pathologischen Zellen koexprimiert waren. Auch ein Markerwechsel des Klons bleibt zu diskutieren.

12. Zusammenfassender Vergleich mit der Literatur

Zwar stellte Griesinger et al. (64) fest, dass bei einem Anteil von 1% mit leukämietypischem Antigenmuster im Remissionsknochenmark häufig Rezidive auftraten, jedoch konnten wir in unserem Patientengut sehr häufig einen Markerwechsel im Verlauf der Erkrankung feststellen, der solche Untersuchungen zu konterkarieren scheint.

Anders könnte es sich verhalten, wenn ein molekularer Marker, wie bei der bcr-abl-Translokation (41), vorliegt, der relativ unveränderlich ist und eine Zunahme der Zellen des Klons anzeigen kann. Chen ZX et al. (41) erwähnt dabei neben dem molekularen Marker der bcr-abl-Translokation das WT 1, welches bei unserer Untersuchung nicht betrachtet wurde, für das aber ebenso gilt, dass es zum Erfassen der MRD geeignet ist.

Ob das gleiche für CD 58 gilt (65), bleibt nachzuweisen, ebenso für verschiedene andere Proteine, wie von Bueso-Ramos C et al. erwähnt (66).

Auch andere haben die von uns beobachteten Markerveränderungen relativ häufig festgestellt (63), ebenso den bei uns aufgetretenen Switch einer B-ALL zu einer AML (63).

Dagegen stimmen unsere Ergebnisse mit anderen Studien überein (25, 26), dass die primäre Koexpression von myeloischen Markern auf lymphatischen Leukämien nicht zwangsläufig eine schlechtere Prognose bedeutet. Das bei Plensa E et al. (25) erwähnte langsamere Ansprechen auf die Therapie bei Koexpression myeloischer Marker konnte von uns z. T. ebenfalls beobachtet werden. Dabei ist aber folgendes zu beachten: bei Patient 1 wurde primär eine AML-Therapie durchgeführt, bei Patient 17 war das Ansprechen auf die Therapie insgesamt gut, nur die CD 13 positiven Zellen reagierten etwas langsamer und bei Patient 18

lag primär eine c-ALL ohne myeloische Marker vor, diese traten erst beim Rezidiv auf, sprachen dann aber eher schlecht auf die Therapie an.

Die schlechtere Prognose der bcr-abl-positiven ALL (13, 14, 15) konnten wir ebenfalls beobachten. Auch die hohe Rezidivrate, wie von Faderl S et al. (13) beschrieben, war bei uns nachzuweisen, denn zwei der drei Patienten mit bcr-abl-positiver ALL erlitten ein Rezidiv, im Gegensatz zu den Patienten mit bcr-abl-negativer ALL, hier erlitten zwei der sechs Patienten ein Rezidiv (13, 14). Von den vier Patienten mit biphänotypischer ALL erlitten zwei ein Rezidiv (25, 26). Ein geringeres initiales Therapieansprechen, wie von Gleissner B et al. (14) beschrieben, konnten wir nicht nachweisen. Bei Patient 1 wurde initial keine Therapie nach dem ALL-Protokoll durchgeführt, wodurch das bei diesem Patienten aufgetretene mangelnde Therapieansprechen nicht aussagekräftig ist. Bei den Patienten 2 und 3 konnte jedoch histologisch nach der Induktion 1 und 2 eine komplette Remission nachgewiesen werden, immunzytologische Ergebnisse lagen hier allerdings noch nicht vor. Damit entsprechen unsere Ergebnisse eher denen von Wrzesien-Kus A et al., die eine komplette Remission nach einem oder mehr Induktionszyklen bei 70% der Patienten beobachteten.

Über die von uns beobachteten Veränderungen der CD 4 und CD 8 positiven Zellen konnte ich keine Literatur finden, weshalb hier keine Vergleiche angestellt werden können.

Die von uns erhobenen Daten basieren jedoch insgesamt auf geringen Fallzahlen, weshalb hier keine repräsentative Statistik erhoben werden kann.

Schlussfolgerung

Im Vergleich aller Patienten lässt sich, unabhängig vom Subtyp der Erkrankung, feststellen, dass bei der Mehrzahl die pathologischen Zellen mittels der immunzytologischen Untersuchung zu fast jedem Zeitpunkt nachweisbar waren, wenn auch in unterschiedlicher Höhe. Die Persistenz der malignen Zellen könnte dabei ein erhöhtes Risiko für ein Rezidiv darstellen. Allerdings traten auch bei lang andauernden Remissionen mit nur minimaler Nachweisbarkeit der pathologischen Zellen Rezidive auf, im Gegensatz dazu blieben aber auch Patienten mit ständig, z. T. stark erhöhten Werten der malignen Zellen rezidivfrei. Auffällig war, dass bei den Patienten mit einer ursprünglich CD 10 negativen pro- bzw. prä-B-ALL im Verlauf das CD 10 koexprimiert wurde. Die Ursachen dafür könnten regenerative Veränderungen, aber auch ein Switch hin zur Expression des c-ALL-Antigens sein. Vier der sieben Patienten mit Rezidiv erlitten dieses nach einer allogenen Transplantation, davon hatten zwei Patienten bereits ein erstes Rezidiv vor der Transplantation, ein Patient hatte auf die initiale Chemotherapie nicht angesprochen. Bei den drei anderen Patienten kam es im Verlauf der Chemotherapie zu einem Rezidiv. Nach autologer Transplantation erlitten zwei der drei Patienten kein Rezidiv; der dritte Patient sprach auf die Transplantation als Therapie der letzten Wahl nicht an, sodass kein Rezidiv i. e. S. vorlag. Bei keinem der Patienten ließ sich aus dem Verlauf der malignen Zellen ein Rezidiv vorhersagen.

Die myeloischen Marker waren bei allen beobachteten Patienten, bei denen sie bestimmt wurden, in unterschiedlicher Höhe nachweisbar. Bei elf Patienten war ein wellenförmiger Verlauf zu beobachten, bei acht davon gegenläufig zu den pathologischen Zellen, bei zwei gleichsinnig dazu; bei einer Patientin erfolgte der wellenförmige Verlauf ohne Bezug zu den pathologischen Zellen, da diese nach der Therapie kaum nachweisbar waren. Möglicherweise besitzen die myeloischen Zellen die Fähigkeit die malignen Zellen zu unterdrücken und sie stehen in ständiger Konkurrenz mit diesen, was den ondulierenden Verlauf erklären könnte. Eine andere mögliche Erklärung liegt, im Gegensatz zum eben Erläuterten, in einer Vorläufereigenschaft der myeloischen für die pathologischen Zellen. In diesem Fall könnte man aus einer Erhöhung der myeloischen Zellen auf einen erneuten Anstieg der malignen Zellen schließen. Allerdings traten gerade bei den Patienten mit ausgeprägten Schwankungen sowohl der myeloischen als auch der malignen Zellen keine Rezidive auf. Dagegen waren bei den Patienten mit einem Rezidiv die myeloischen Marker zwar nachweisbar, aber unauffällig, d. h. sie zeigten weder ausgeprägte Schwankungen noch stark erhöhte Werte. Als dritte mögliche Erklärung für die Präsenz der myeloischen Zellen kommt eine Vermehrung im

Rahmen einer Regeneration des Knochenmarkes bei zytostatischer Therapie in Betracht und dies ist die wahrscheinlichste Ursache erhöhter Werte bei den myeloischen Vorläuferzellen.

Das CD 4/CD 8- Verhältnis war bei fast allen Patienten über den gesamten Verlauf invers, dabei meist mit normalen oder gering erhöhten CD 8- und erniedrigten CD 4- Werten. Diese Veränderung trat im Rahmen der zytostatischen Therapie auf, d. h. sie zeigt eine aufgrund der Therapie veränderte Regenerationsfähigkeit der beiden Zellpopulationen. Die Inversität hielt bei vielen Patienten auch nach Beendigung der Therapie an. Eine weitere mögliche Erklärung wäre die zytotoxische Aktivität der CD 8- Zellen. Diese könnten als Zeichen der erhöhten körperlichen Abwehraktivität gegen die Tumorzellen erhöht sein und damit eventuell auch eine Reaktion auf erneutes Wachstum der malignen Zellen bedeuten. Bei drei Rezidivpatienten lassen sich vor dem Ereignis stark erhöhte CD 8- Werte feststellen (50% und mehr), während bei den anderen Patienten die Erhöhung der CD 8- Zellen geringer ausfiel. Bei drei Patienten (17, 19, 23) war das CD 4/CD 8- Verhältnis zu jedem Zeitpunkt normal; eventuell liegt die Ursache hierfür in dem unterschiedlichen Subtyp der Erkrankung bzw. in der anders gewählten Therapie, was eine geringere Beeinträchtigung der Regenerationsfähigkeit des Immunsystems zur Folge haben könnte.

Die zytologische Untersuchung zeigte im Vergleich zur Immunzytologie teilweise kontroverse Ergebnisse. Häufig fand sich in der Zytologie bei der schon erwähnten immunzytologischen Persistenz der malignen Zellen eine komplette Remission, d. h. ein Blastenanteil von $< 5\%$. Weiterhin wurden teilweise in der Zytologie erhöhte Blastenzahlen angegeben, für die sich in der Immunzytologie kein Korrelat finden ließ, möglicherweise regenerierende myeloische Blasten. Bei 15 Patienten fanden sich überwiegend ähnliche Ergebnisse in Zytologie und Immunzytologie, wobei jedoch die zahlenmäßigen Angaben häufig voneinander abwichen. Bisher wird ein Rezidiv aber immer aus der Zytologie definiert.

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass die immunzytologische Untersuchung bei dem Patientenkollektiv fast immer einen Nachweis der Persistenz von malignen Zellen erlaubt. Diese Tatsache scheint aber ebenso wie die Höhe der nachgewiesenen pathologischen Zellen keinen Einfluss auf ein Rezidiv zu haben, bzw. lässt sich ein Rezidiv allein aus der Persistenz nicht vorhersagen. Jedoch lassen sich mittels der Immunzytologie andere Reaktionen des Knochenmarkes mitverfolgen, wie die Erhöhung der myeloischen Zellen, sei es regenerativ, als Kofaktor und Prädiktor oder als Zeichen einer tumorunterdrückenden Aktivität, oder auch das inverse CD 4/CD 8-Verhältnis. Dabei könnten stark erhöhte CD 8- Werte möglicherweise eine prädiktive Eigenschaft i. S. einer Abwehrreaktion im Rahmen einer erneuten

Vermehrung der pathologischen Zellen besitzen, da sie in dieser Höhe nur bei den Rezidivpatienten vorhanden waren. Im Vergleich zur zytologischen Untersuchung ergibt sich im Hinblick auf eine frühere Rezidiverkennung kein eindeutiger Vorteil der Immunzytologie; der Vorteil der Immunzytologie liegt in der Möglichkeit, den Verlauf der malignen Zellen mit sämtlichen Schwankungen expliziter verfolgen zu können sowie in der parallelen Betrachtung der restlichen Zellpopulationen im Knochenmark.

Literatur- und Quellenverzeichnis

- 1 Bassan R et al. (2004) Adult acute lymphoblastic leukaemia
- 2 Krejci O et al. (2003) Cutting edge : TCR delta gene is frequently rearranged in adult B-lymphocytes
- 3 LeBien TW (2000) Fates of human B-cell-precursors
- 4 Vanasse GJ et al. (1999) Regulated genomic instability and neoplasia in the lymphoid lineage
- 5 Faderl S et al. (1998) Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia
- 6 Sachdeva MU et al. (2006) Role of FAB-classification of acute Leukemias in era of immunophenotyping
- 7 Löffler H et al. (1999) Atlas der klinischen Hämatologie. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York Barcelona, 5. Aufl.
- 8 European Group for the Immunological Characterization of Leukemia (EGIL) (1995) Proposals for the immunological classification of acute Leukemias
- 9 Harris NL et al. (1999) WHO classification of neoplastic disease of the hemapoetic and lymphoid tissues: report of the clinical advisory committee meeting – Airlie House, Virginia, November 1997
- 10 Ludwig WD et al. (1994) Immunophenotypic classification of acute lymphoblastic leukemia
- 11 Hoelzer D et al. (1998) Leukämietherapie UNI-MED-Verlag, Bremen, 1. Aufl.
- 12 Lipp T et al. (2003) Akute lymphoblastische Leukämie (ALL) bei Erwachsenen
- 13 Faderl S et al. (2002) Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia – current concepts and future perspectives
- 14 Gleissner B et al. (2002) Leading prognostic relevance of the BCR-ABL translocation in adult acute B-lineage lymphoblastic leukemia: a prospective study of the German Multicenter Trial Group and confirmed polymerase chain reaction analysis
- 15 Wrzesien-Kus A et al. (2006) Outcome of treatment in adults with Philadelphia – chromosome-positive and/or BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia – retrospective analysis of Polish Adult Leukemia Group (PALG)
- 16 Ludwig WD et al. (1998) Immunophenotype and genotypic features and treatment outcome of adult pro-B acute lymphoblastic leukemia; results of the German Multicenter Trials GMALL 03/87 and 04/89
- 17 Ludwig WD et al. (1994) Immunophenotypic features of childhood and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): Experience of the german multicenter trials ALL-BFM and GMALL
- 18 Tiftik N et al. (2004) The importance of CD 7 and CD 56 antigens in acute Leukemias
- 19 Thews A (1998) Immunphänotypisierung hämatologischer Erkrankungen mittels Durchflusszytometrie. Coulter-Immunotech Diagnostics, Leitfaden
- 20 Gleissner B et al. (2005) CD 10-pre-B acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a distinct high.risk subgroup of adult ALL associated with a high frequency of MLL aberrations: results of the German Multicenter Trials for Adult ALL (GMALL)
- 21 Torelli GF et al. (2005) FLT3 inhibition in t(4;11)+ adult acute lymphoid leukaemia
- 22 Schwartz S et al. (2003) Expression of the human homologue of rat NG2 in adult acute lymphoblastic leukemia: close association with MLL rearrangement and a CD10(-)/CD24(-)/CD65s(+)/CD15(+) B-cell phenotype
- 23 Zhao HJ et al. (2003) Characterization of CD10 expression an its significance in minimal residual disease detection in childhood B-acute lymphoblastic leukemia
- 24 Rothe G et al. (1996) Leukemia
- 25 Plensa E et al. (2005) Prevalence and prognostic significance of myeloid markers in adults with high-risk acute lymphoblastic leukemia
- 26 Vitale A et al. (2007) Absence of prognostic impact of CD13 and/or CD33 antigen expression in adult lymphoblastic leukemia. Results of the GIMEMA ALL 0496 trial
- 27 Guillaume N et al (2005) ZAP-70 tyrosine kinase is constitutively expressed and phosphorylated in B-lineage acute lymphoblastic leukemia cells
- 28 Copelan EA et al. (1995) The biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults
- 29 Kebriaci P et al. (2002) Acute lymphoblastic leukaemia: diagnosis and classification

- 30 D'Achille P et al. (2006) Translocation (14 ;18)(q32 ;q21) in adult lymphoblastic leukemia a study of 12 cases and review of the literature
- 31 Mancini M et al. (2005) A comprehensive genetic classification of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of the GIMEMA 0496 protocol
- 32 Mitelman F et al. (1992) Quantitative acute leukemia cytogenetics. *Genes Chromosom Cancer* 5
- 33 Sunil SK et al. (2006) Adult acute lymphoblastic leukemia with near haploidy, hyperploidy and PH-positive lines: a rare entity with poor prognosis
- 34 Li JL et al (2003) Immunophenotypic features of bcr/abl fusion transcript-positive B-lineage acute lymphoblastic leukemia
- 35 Cimino G et al. (2006) The role of BCR/ABL isoforms in the presentation and outcome of patients with Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia: a seven-year update of the GIMEMA 0496 trial
- 36 Castagnola C et al. (2005) Long-term outcome of ph-negative acute lymphoblastic leukaemia in adults: a single center experience
- 37 Nashed AL et al. (2003) Clinical applications of BCR-ABL molecular testing in acute leukemia
- 38 Goldman JM et al. (1990) Chronic myelogenous leukemia-The unfolding saga. *Leukemia* 4
- 39 Selleri L et al. (1990) Chronic myeloid leukemia may be associated with several bcr-abl transcripts including the acute lymphoid leukemia-type 7 kb transcript
- 40 Xue F et al. (2003) Detection of minimal residual disease in Ph+/bcr-abl+ acute lymphoblastic leukemia by cytogenetic analysis, nested-PCR and flow cytometry
- 41 Raanani P et al. (2005) Philadelphia-chromosome-positive T-lymphoblastic leukemia: acute leukemia or chronic myelogenous leukemia blastic crisis
- 42 Chen ZX et al. (2004) Expression patterns of WT-1 and Bcr-Abl measured by TaqMan quantitative real-time RT-PCR during follow-up of leukemia patients with the Ph-chromosome
- 43 Lion T (1994) Clinical implications of qualitative and quantitative polymerase chain reaction analysis in the monitoring of patients with chronic myelogenous leukemia
- 44 Hansen HT et al. (1989) Detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia by in vitro amplification of rearranged T-cell receptor delta chain sequences
- 45 Gameiro P et al. (2002) Minimal residual disease monitoring in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia: a molecular based approach using T-cell receptor G and D gene rearrangements
- 46 Szczepanski T et al. (2003) Comparative analysis of T-cell receptor gene rearrangements at diagnosis and relapse of T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) shows high stability of clonal markers for monitoring of minimal residual disease and reveals the occurrence of second T-ALL
- 47 Thirman MJ et al. (1993) Rearrangement of the MLL gene in acute lymphoblastic and acute myeloid Leukemias with 11q23 chromosomal translocations
- 48 Pais A et al. (2005) Identification of various MLL gene aberrations that lead to MLL gene mutation in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and infants with acute leukemia
- 49 Zhang L et al. (2003) Chromosomal changes detected by fluorescence in situ hybridization in patients with acute lymphoblastic leukemia
- 50 Mancini M et al. (2001) Detection of BCR/ABL rearrangements in adult acute lymphoblastic leukemia using a highly sensitive interphase fluorescence in situ hybridization method (D-FISH)
- 51 Wu B et al. (2002) Clinical significance of dual color-dual fusion translocation fluorescence in situ hybridization in the detection of bcr/abl fusion gene
- 52 Hastka K (1997) *Immunzytologie*. Schattauer Verlag, Stuttgart New York
- 53 Lau LG et al. (2004) Acute lymphoblastic leukemia with the phenotype of a putative B-cell/T-cell bipotential precursor
- 54 Catovsky D et al. (1992) The classification of acute leukemia
- 55 Gale RP et al. (1987) Annotation: Hybrid acute leukemia
- 56 Hoelzer D (1995) Acute lymphoblastic leukemia in adults
- 57 Kantarjian HM (1994) Adult acute lymphocytic leukemia: critical review of current knowledge
- 58 Hoelzer D et al. (2006) Akute lymphatische Leukämie des Erwachsenen
- 59 Gökbüget N et al. (1999) Akute lymphatische Leukämie des Erwachsenen

- 60 Raff T et al. (2007) Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials
- 61 Bruggemann M et al. (2006) Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia
- 62 Fruehauf S et al. (2001) Durchflusszytometrische Diagnostik maligner hämatologischer Erkrankungen
- 63 Tomova A et al. (2001) Shifts in expression of immunological cell markers in relapsed acute leukemia
- 64 Griesinger F et al. (1999) Leukaemia-associated immunophenotypes (LAIP) are observed in 90% of adult and childhood acute lymphoblastic leukaemia: detection in remission marrow predicts outcome
- 65 Chen JS et al. (2001) Identification of novel markers for monitoring minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia
- 66 Bueso-Ramos C et al. (2005) Protein expression of a triad of frequently methylated genes, p73, p57Kip2 and p15, has prognostic value in adult acute lymphocytic leukemia independently of its methylation status

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist, ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Frau Prof. Dr. med. K. Pachmann, Herr OA Dr. med. U. Wedding, Frau A. Waldau,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jana Günther

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. K. Pachmann, die mir mit fachlichem Rat und Anregungen jederzeit zur Seite stand und diese Arbeit ermöglicht hat. Ich danke ebenfalls Frau A. Waldau für die freundliche Einweisung in die praktische Durchführung der FACS-Analyse. Weiterhin danke ich Herrn Oberarzt Dr. med. U. Wedding für die Bereitstellung der Therapieprotokolle. Mein Dank gilt außerdem den Ärzten und Schwestern der Mildred-Scheel-Station für Knochenmarktransplantationen und den Mitarbeiterinnen des Archivs des Universitätsklinikums Jena für die freundliche Bereitstellung der Patientenakten. Auch allen nicht namentlich erwähnten Mitarbeitern des Forschungszentrums Jena sei an dieser Stelle gedankt.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meinen Eltern Heike und Rainer Günther und meinem Freund Nico für ihre Liebe und große Unterstützung bedanken; und dabei ganz besonders bei meiner Mutter, die mich immer wieder motivierte und mir mit ihren Computerkenntnissen die Arbeit erleichterte. Außerdem möchte ich mich herzlich bei meiner Freundin Tina bedanken, die als Deutschlehrerin die notwendigen Korrekturen vorgenommen hat.

Lebenslauf

Jana Günther

*** 26. März 1980 in Nordhausen**

**Förstemannstr. 15
99734 Nordhausen**

Schule

09/1986 – 02/1989	Adolf Diesterweg Oberschule, Nordhausen
03/1989 – 08/1990	Deutsche Botschaftsschule, Bogotá/Kolumbien
09/1990 – 08/1991	Adolf Diesterweg Oberschule, Nordhausen
09/1991 – 07/1995	Colegio Andino – Deutsche Schule Bogotá/Kolumbien
08/1995 – 07/1998	Wilhelm von Humboldt Gymnasium, Nordhausen

Abschluss 1998: Abitur

Berufsausbildung

10/1998 - 09/2001	Krankenpflegeausbildung Südharzkrankenhaus Nordhausen gGmbH Abschluss 2001: Krankenschwester
--------------------------	--

Studium

10/2001 – 12/2007	Studium der Humanmedizin Friedrich – Schiller Universität Jena Abschluss 2007: Approbation als Ärztin
--------------------------	---

01/2008 – 03/2009	Südharzkrankenhaus Nordhausen gGmbH Assistenzärztin für Visceralchirurgie
--------------------------	--

Seit 04/2009	Hufeland Klinikum GmbH, Mühlhausen Assistenzärztin für Visceralchirurgie
---------------------	---

Nordhausen, 05.05.2009

Unterschrift :